

RECHERCHES CHIMIQUES  
PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACEUTIQUES

SUR

BRASSICA NIGRA ET SON ESSENCE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 9 Juillet 1927

PAR

Max MOUSSERON

PHARMACIEN DE 1<sup>re</sup> CLASSE

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Pour obtenir le Diplôme Supérieur de Pharmacien de 1<sup>re</sup> Classe

JURY : } MM. ASTRUC, Professeur, *Président*.  
              } IMBERT, Professeur  
              } CANALS, Agrégé. } *Assesseurs*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE EMMANUEL MONTANE

Rue Ferdinand-Fabre et Quai du Verdanson

1927



RECHERCHES CHIMIQUES, PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACEUTIQUES

SUR

**BRASSICA NIGRA ET SON ESSENCE**



RECHERCHES CHIMIQUES  
PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACEUTIQUES  
SUR  
BRASSICA NIGRA ET SON ESSENCE

THÈSE

Presentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 9 Juillet 1927

PAR

Max MOUSSERON

PHARMACIEN DE 1<sup>re</sup> CLASSE

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PRÉPARATEUR À LA FACULTÉ DE PHARMACIE

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Pour obtenir le Diplôme Supérieur de Pharmacien de 1<sup>re</sup> Classe

JURY : { MM. ASTRUC, Professeur, *Président*.  
IMBERT, Professeur  
CANALS, Agrégé. } *Assesseurs*

MONTPELLIER  
IMPRIMERIE EMMANUEL MONTANE

Rue Ferdinand-Fabre et Quai du Verdanson

1927

# Faculté de Pharmacie de Montpellier

## ADMINISTRATION

|                            |           |                              |
|----------------------------|-----------|------------------------------|
| MM. G. MASSOL (✱, I. P. ☉) | . . . . . | <i>Doyen.</i>                |
| A. ASTRUC (✱, I. P. ☉)     | . . . . . | <i>Assesseur.</i>            |
| GILLET (✱, ☿, A. ☉)        | . . . . . | <i>Secrétaire.</i>           |
| IZARD (I. P. ☉)            | . . . . . | <i>Secrétaire honoraire.</i> |

## PROFESSEURS

|                                             |           |                                       |
|---------------------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| MM. G. MASSOL (✱, I. P. ☉)                  | . . . . . | <i>Physique appliquée.</i>            |
| H. IMBERT (I. P. ☉)                         | . . . . . | <i>Analyse chimique.</i>              |
| H. FONZES-DIACON (✱, I. P. ☉, ✱)            | . . . . . | <i>Chimie minérale.</i>               |
| A. ASTRUC (✱, I. P. ☉)                      | . . . . . | <i>Pharm. galénique et industr.</i>   |
| HOLLANDE (I. P. ☉)                          | . . . . . | <i>Zoologie et microbiologie.</i>     |
| P.-J. TARBOURIECH (✱, I. P. ☉)              | . . . . . | <i>Chimie organique.</i>              |
| A. JUILLET (I. P. ☉)                        | . . . . . | <i>Botanique et matière médicale.</i> |
| A. FAUCON (✱, I. P. ☉, ✱,<br>C. ☿, G. O. ☿) | . . . . . | <i>Pharmacie chimique.</i>            |

## PROFESSEURS HONORAIRES

|                                                                              |  |
|------------------------------------------------------------------------------|--|
| MM. F. JADIN (✱, I. P. ☉), doyen de la Faculté de Pharmacie<br>de Strasbourg |  |
| ASTRE (I. P. ☉)                                                              |  |

## CHARGÉS DE COURS

|                                             |           |                                    |
|---------------------------------------------|-----------|------------------------------------|
| MM. H. IMBERT (I. P. ☉)                     | . . . . . | <i>Toxicologie.</i>                |
| A. ASTRUC (✱, I. P. ☉)                      | . . . . . | <i>Hydrologie.</i>                 |
| P. J. TARBOURIECH (✱, I. P. ☉)              | . . . . . | <i>Chimie biologique.</i>          |
| A. JUILLET (I. P. ☉)                        | . . . . . | <i>Botanique.</i>                  |
| A. FAUCON (✱, I. P. ☉, ✱,<br>C. ☿, G. O. ☿) | . . . . . | <i>Fonct. en chimie organique.</i> |
| HOLLANDE (I. P. ☉)                          | . . . . . | <i>Zoologie.</i>                   |
| MOYE, pr. Fac. Droit (✱, I. P. ☉)           | . . . . . | <i>Législation pharmaceutique.</i> |



## AGRÉGÉ

|                      |
|----------------------|
| M. E. CANALS (A. ☉), |
|----------------------|

## CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

|                      |           |                             |
|----------------------|-----------|-----------------------------|
| MM. E. CANALS (A. ☉) | . . . . . | <i>Physique.</i>            |
| L. FARRÉ (I. P. ☉)   | . . . . . | <i>Chimie et Pharmacie.</i> |
| N. . . . .           | . . . . . | <i>Histoire naturelle.</i>  |

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

A MA SŒUR

MEIS ET AMICIS

M. M.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ASTRUC

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR  
CORRESPONDANT NATIONAL DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

*Hommage de respect et de reconnaissance.*

M. M.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR IMBERT

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CANALS

A MES MAITRES  
DE  
LA FACULTE DE PHARMACIE

A MES MAITRES  
DE  
LA FACULTÉ DES SCIENCES

M. M.



## AVANT-PROPOS

*En présentant cette thèse, je ne veux pas manquer d'exprimer ma sincère reconnaissance à mon père, qui développa en moi le goût de la recherche, à tous mes Maîtres des Facultés de Pharmacie et des Sciences, et principalement à ceux qui ont eu sur mon travail une influence plus immédiate.*

*C'est à M. le Professeur Astruc, ce Maître bienveillant, que je dois le sujet de cette thèse, et c'est dans son laboratoire que j'ai poursuivi ces recherches.*

*Je suis heureux de pouvoir lui dire ici toute ma gratitude pour la bonté qu'il m'a témoignée durant les cinq années passées près de lui comme préparateur et de le remercier des nombreux conseils qu'il m'a prodigués.*

*Qu'il me permette de lui présenter l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon respectueux attachement.*

*Je remercie bien vivement M. le Professeur Imbert de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de faire partie de mon jury de thèse; je n'oublierai jamais la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée.*

*Mes sentiments de reconnaissance vont également vers M. Canals, Professeur-agrégé; ses conseils éclairés ont toujours été un grand appui moral pour moi et ont bien souvent facilité mes recherches.*



# RECHERCHES CHIMIQUES

PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACEUTIQUES

SUR

## BRASSICA NIGRA ET SON ESSENCE

---

### INTRODUCTION

La moutarde paraît être connue depuis longtemps; c'est ainsi que dans le sanscrit on relève le nom *Katu*, signifiant âcre et fort, rappelant certainement cette plante.

En médecine, on n'utilise que la graine, qui est petite, ronde, finement ponctuée et de couleur rougeâtre ou grisâtre.

Les sortes commerciales sont constituées le plus souvent par des espèces variables, quoique les Pharmacopées indiquent des sortes nettement définies.

C'est ainsi que les Codex français, allemand, espagnol... signalent comme seul officinal le *Brassica nigra* Koch.

D'autres formulaires prescrivent outre *B. nigra*, d'autres espèces, telles que *B. juncea*, *B. cernua*.

Seuls, les caractères micrographiques, d'ailleurs bien mis en lumière par RENVERSADE (1), permettent de différencier les diverses sortes.

---

(1) Th. Doct. Univ. (Pharm.), Lyon, 1913.

Il ne faudrait pas croire que *B. nigra* se trouve à l'état de pureté dans les officines; c'est ainsi que certains produits, tels que les moutardes de Russie, de Roumanie, de Bombay, d'Orient, sont composés de *B. nigra*, mélangé à d'autres sortes, ou même sont exclusivement formés par ces graines étrangères. IMBERT et JUILLET (1) ont montré que divers lots de farine de moutarde étaient falsifiés par *Sinapis Alba*.

Cependant, les moutardes du Levant, de Sicile, d'Alsace, sont uniquement constituées par *B. nigra* ou un hybride.

Le Codex français ne fournit pas de renseignements micrographiques, mais il indique avec soin que le titre en essence ne doit pas être inférieur à 0,70 % et donne un procédé de dosage.

Néanmoins, l'essai chimique ne permet pas de déclarer les graines de moutarde conformes au Codex, vu leur origine botanique; cependant, au point de vue thérapeutique, seul l'effet rubéfiant est à considérer; aussi doit-on examiner avec attention le taux en essence des diverses farines de moutarde.

Nous allons donc, à cet effet, rappeler le dosage officiel, modifié par le Supplément du Codex de 1925, calqué sur les procédés de DIÉTERICH (2) et GADAMER (3).

On effectue une macération à 20°, à l'aide de 5 grammes de farine de moutarde et 100 gr. d'eau. Après un contact d'une heure, on ajoute 20 cc. d'alcool, 2 cc. d'huile et on distille. Le distillat est reçu dans 10 cc. d'ammoniaque, placé dans un ballon jaugé de 100 cc.; après obtention de

---

(1) *Bull. Sc. Pharm.*, t. xx, p. 385.

(2) *Helfenberg Analen*, 1896, p. 222.

(3) *Arch. der Pharm.*, t. ccxxxv, p. 58.

75 cc. de liquide, on ajoute 20 cc.  $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{\text{N}}{10}$ , on complète à 100 cc. et on abandonne 12 heures à l'obscurité.

Le précipité de sulfure d'argent est ensuite séparé par filtration et le filtre lavé quatre fois, avec 20 cc. d'eau. Le filtrat est alors additionné de 10 cc. d'acide azotique et 1 cc. d'alun de fer ammoniacal au 1/10°.

A l'aide d'une burette, on verse une solution de sulfo-cyanure d'ammonium  $\frac{\text{N}}{50}$  jusqu'à teinte rose.

Si on utilise  $n$  cc. de solution :

$$(1,98 - 0,0198 \times n) = \text{allylsénévol } \%$$

Nous avons appliqué comparativement le procédé de MORVILLEZ et MEESEMÆCKER (1), basé sur la fixation de l'iode sur la thiosinamine en milieu acide.

50 cc. de distillat, obtenus comme précédemment, sont neutralisés et acidifiés ensuite par 10 cc. d'acide sulfurique, puis additionnés de 10 cc. de solution d'iode  $\frac{\text{N}}{10}$ .

Après quinze minutes de contact à l'obscurité, on ajoute 10 cc. de chloroforme et quelques gouttes de décocté d'amidon; on titre l'excès d'iode par une solution décimormale d'hyposulfite. Si  $n$  est le nombre de centimètres cubes utilisés, le titre en essence pour cent est donné par :

$$(10 - n) \times 0,00495 \times 40$$

Cette méthode nous a fourni des résultats identiques à ceux obtenus avec le procédé argentimétrique; de plus, ce mode de dosage a l'avantage d'être plus rapide que celui indiqué par le Codex.

Possédant de bons procédés de dosage, nous avons déterminé les valeurs de diverses moutardes d'origine

(1) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. xxviii, p. 442.

(7), t. xxx, p. 236.

sûre (1); les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous:

| ORIGINE DES MOUTARDES NOIRES        | ALLYLSÉNÉVOL % |
|-------------------------------------|----------------|
| Roumanie (qualité supérieure) ..... | 0,84           |
| — (qualité inférieure) .....        | 0,50           |
| Levant .....                        | 1,15           |
| Russie .....                        | 0,80           |
| Abyssinie .....                     | 0,87           |
| Bombay .....                        | 0,75           |
| Calcutta .....                      | 0,48           |
| Sicile .....                        | 1,00           |

La plupart des moutardes sont donc conformes au Codex; c'est d'ailleurs ce qu'ont observé MARGUERIT (2), puis SAUVAITRE (3) sur divers échantillons de Vendée, Médoc ou Bombay, pour lesquels le titre en essence est bien supérieur à 0,70 %.

Les graines de moutarde contiennent en moyenne près de 30 % d'une huile inodore et non siccative, que l'on peut extraire par pression ou mieux à l'aide de solvants appropriés. C'est ainsi que des produits de faible teneur en allylsénévol peuvent fournir un titre acceptable après traitement; d'ailleurs la plupart des farines commerciales sont déshuilées, tout au moins en partie.

Nous avons nous-même réalisé le déshuilage à l'aide de benzine, de sulfure de carbone, ou, mieux encore, avec certains dissolvants ininflammables et incombustibles, tels que le trichloréthylène, tétrachloréthane, perchloréthylène. Ces derniers produits ont un pouvoir dissolvant considérable et possèdent une action rapide; ils servent cou-

---

(1) Les différentes graines nous ont été gracieusement fournies par les Etablissements GARBIT, de Marseille.

(2) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. VII, p. 547.

(3) *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1927, p. 94.

ramment à l'extraction des huiles de plantes de toutes espèces ou de leurs tourteaux, de l'huile de grignons d'olive, au dégraissage de la laine, à l'obtention de certains parfums. Ces solvants ont été utilisés soit par macération, soit, mieux, par lixiviation. Nous avons ainsi obtenu des farines de moutarde de titre bien supérieur, et inodores; ce sont donc d'excellents procédés de déshuilage de la moutarde. Cependant, indiquons que le perchloréthylène, quoique parfait dissolvant des matières grasses, a une action annihilante vis-à-vis de la myrosine; on pouvait penser que cette action était due à des traces de chlore libre; il n'en est rien puisque, soit chauffé, soit traité par une solution diluée de soude le perchloréthylène possède toujours cette propriété destructive.

Nous nous proposerons d'étudier les graines de moutarde noire à différents points de vue.

Tout d'abord, nous exposerons des recherches purement galéniques: l'influence de la chaleur sur la formation de l'essence de moutarde.

Dans un deuxième chapitre, nous décèlerons quelques ferments contenus dans les graines de *Brassica nigra*, et comparativement dans celles de *Sinapis Alba*.

Dans le chapitre suivant, nous analyserons avec détail les cendres de divers échantillons de graines de moutarde, particulièrement quant à leur teneur en « infiniment petits chimiques ».

Les chapitres qui suivent seront consacrés à l'étude physico-chimique de la réaction diastasique: myronate de potasse-myrosine; nous envisagerons successivement les méthodes utilisées dans ces recherches, l'influence du bisulfate de potasse sur la formation de l'allylsénévol, l'influence de la viscosité, de la température; enfin, dans le dernier chapitre, nous examinerons l'action de la myrosine sur le myronate.

## CHAPITRE I

### INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA FORMATION DE L'ALLYLSENEVOL DANS LA FARINE DE MOUTARDE NOIRE

Il y a environ un siècle que plusieurs auteurs, entre autres THIBIERGE (1), BUSSY (2), BOUTRON et ROBIQUET (3), GUIBOURT (4), FAURÉ (5), GEIGER et HESSE (6), ont acquis la certitude de la non préexistence de l'allylsénovol dans les graines de *Brassica nigra*.

BUSSY (7); ainsi que BOUTRON et FRÉMY (8), dans des rapports présentés en 1839, à la même séance de l'Académie des Sciences, rassemblèrent les résultats précédemment trouvés, et virent dans la formation de l'essence de moutarde une origine fermentaire dite *sinapisique*.

Peu après, BUSSY (9) isola et donna le nom de myrosine

---

(1) *Journ. de Pharm.* (2), t. v, p. 439.

(2) *Journ. de Pharm.* (2), t. xvi, p. 44.

(3) *Journ. de Pharm.* (2), t. xvii, p. 279.

(4) *Traité des Drogues simples*, t. ii, p. 162. — *Journ. de Pharm.* (2), t. xvii, p. 360.

(5) *Journ. de Pharm.* (2), t. xvii, p. 299.

(6) *Analalen den. Pharm.*, vol. xiv, p. 41.

(7) *C. R. Ac. Sc.*, t. ix, p. 810.

(8) *C. R. Ac. Sc.*, t. ix, p. 817.

(9) *Journ. de Pharm.* (2), t. xxvi, p. 39.

(myron, essence; syn, avec) au mélange de substances albuminoïdes capables de fournir l'essence sulfurée.

Ce même auteur isola le glucoside, myronate de potasse et indiqua un procédé d'extraction de ce corps. Plus tard, en 1897, GADAMER (1) étudia la constitution de ce produit, qu'il fit dériver d'un acide hypothétique, l'acide iminoxy-thiocarbonique et examina la formation de l'allylsénévol.

En 1890, GUIGNARD (2) entreprit l'étude microchimique des graines de *Brassica nigra*, et parvint à établir la localisation exacte du ferment myrosine et du glucoside myronate de potasse.

La localisation est encore plus évidente pour la graine de *Lunaria biennis* (Crucifères), dont les téguments renferment la myrosine et les cotylédons le myronate.

D'après ces différents travaux, on voit que ferment et glucoside contenus dans des cellules différentes, réagissent l'un sur l'autre en présence d'eau, pour fournir l'essence de moutarde.

L'eau de macération doit donc pénétrer à travers la paroi semi-perméable de la membrane cellulaire, et l'infiltration peut être plus ou moins accentuée, suivant les conditions physiques, et en particulier la température.

Une élévation de température peut donc permettre aux substances de diffuser plus facilement et provoquer une hydrolyse fermentaire plus avancée, d'où un rendement en essence plus important.

Comme nous l'avons vu, le Codex prescrit d'effectuer une macération de farine de moutarde, à une température de 20°, suivie d'une distillation au bain de glycérine pour entraîner toute l'essence à doser, en vue de transformer l'allylsénévol en thiosinamine puis en sulfure d'argent.

---

(1) *Archiv. der Pharm.*, 1897, p. 44.

(2) *C. R. Ac. Sc.*, t. CXI, p. 249-920.

*Mais cette température de 20°, maintenue durant 1 heure, suffit-elle à libérer la totalité de l'essence?*

Il est fort possible que durant le passage, même rapide, de 20° à 100°, une nouvelle quantité d'essence soit à nouveau formée, et cela suivant un phénomène analogue à la digestion brusque de la papaïne, observée par DELEZENNE, MOUTON et POZERSKI (1).

Ce phénomène intéressant, montre la recrudescence de l'activité diastasique précédant la destruction du ferment par la chaleur, et cela grâce à une modification dans l'adsorption entre le granule et le milieu. Pour montrer la relation entre la papaïne et la myrosine, nous avons réalisé l'expérience suivante:

Une suspension aqueuse à 5 0/0 de moutarde a été soumise immédiatement à la distillation (10 minutes se sont écoulées avant l'ébullition); nous avons ainsi obtenu 0,32 % d'essence, le titre Codex étant de 0,52 %. C'est donc que le passage brusque de 20 à 100° permet à la réaction diastasique de s'effectuer partiellement. Pour examiner l'influence de la température de macération sur le dégagement de l'essence, nous avons été amené à modifier le dosage officinal, *de façon à éviter la distillation à 100°*.

Envisageons les divers procédés utilisés.

#### DISTILLATION SOUS PRESSION RÉDUITE

Des macérations aqueuses à 5 % de farine de moutarde, durant une heure (2) ont été effectuées à différentes températures, et en nous entourant de diverses précautions.

---

(1) C. R. Soc. Biol., t. LX, p. 68 et 309.

(2) Les durées de macération n'ont pas été prolongées au-delà d'une heure, le rendement en essence étant alors plus faible.

Tout d'abord, l'eau de macération était portée au préalable à la température envisagée, puis versée sur la poudre de moutarde, placée dans un ballon à distillation fractionnée de 250 cc.

Le col du ballon était fermé par un bouchon en liège, traversé par un thermomètre; la tubulure latérale était munie d'un robinet permettant d'effectuer la mise en place du réfrigérant, en évitant toute perte en essence.

L'ensemble était disposé sur un bain-marie porté à la température de l'expérience et l'agitation effectuée le plus souvent possible, de façon à ne pas avoir de différence de température entre le ballon et le thermostat.

Après une heure de macération, nous procédions à la distillation de l'essence, sous pression réduite, en recueillant le distillat dans une fiole contenant 10 cc. d'ammoniaque.

Un deuxième barboteur à ammoniacque permettait de retenir les dernières traces d'allylsénévol; la distillation était arrêtée lorsque le volume du distillat total était voisin de 75 cc.

Les deux solutions alcalines étaient alors réunies, puis additionnées de 20 cc. d'azotate d'argent décimormal et le volume porté à 100 cc.; l'excès d'argent était ensuite dosé par le sulfocyanure d'ammonium cinquantinormal, suivant les prescriptions du Supplément du Codex de 1925.

Nous avons appliqué parallèlement le procédé de MORVILLEZ et MEESEMÆKER (1) qui nous a fourni des résultats comparables à ceux obtenus par la méthode précédente.

Le résidu de la distillation sous vide partiel a été ensuite additionné de 80 cc. d'eau, abandonné une heure, puis distillé à 100° suivant le procédé officinal, nous avons recueilli ainsi une nouvelle quantité d'essence.

Ce dégagement complémentaire, ajouté à la proportion

---

(1) *Loc. cit.*

d'essence précédemment formée, nous a fourni un total très voisin de celui donné par la méthode du Codex.

Ces résultats intéressants sont consignés dans les tableaux ci-dessous :

| MOUTARDE NOIRE |                  | DISTILLATION DU |      |
|----------------|------------------|-----------------|------|
| ORIGINE        |                  | RÉSIDU A 100°   |      |
| Abyssinie.     | Procédé Codex .. | 0,84 %          | —    |
|                | Dist. à 50° .... | 0,60            | 0,21 |
|                | — à 65° ....     | 0,74            | 0,08 |
| Levant...      | Procédé Codex .. | 1,15 %          | —    |
|                | Dist. à 50° .... | 0,80            | 0,31 |
|                | — à 65° ....     | 0,97            | 0,16 |
| Calcutta..     | Procédé Codex .. | 0,48 %          | —    |
|                | Dist. à 50° .... | 0,34            | 0,12 |
|                | — à 65° ....     | 0,41            | 0,06 |

La méthode de distillation de l'essence de moutarde sous pression réduite, présente l'inconvénient d'entraîner une quantité importante d'ammoniaque; aussi n'avons-nous pas pu pousser le vide aussi loin que nous l'aurions désiré.

Cependant, grâce à cette méthode, les résultats acquis montrent nettement l'influence de la température de macération sur la formation de l'essence.

#### EXTRACTION PAR L'ÉTHER

L'essence de moutarde est peu soluble dans l'eau, mais très soluble dans l'éther; aussi nous sera-t-il possible de l'extraire de sa solution aqueuse à l'aide de ce solvant.

Nous avons introduit, dans un Erlenmeyer tubulé de 200 cc., 5 grammes de moutarde, 100 cc. d'eau et porté à la température envisagée, puis laissé l'action de l'eau se poursuivre durant une heure à cette même température.

La macération, terminée et refroidie à 20° environ, a été traitée par 30 cc. d'éther; après plusieurs agitations, l'éther surnageant, a été décanté grâce à la tubulure latérale.

Quatre à cinq traitements identiques étant effectués, les solutions éthérées ont été réunies et additionnées de 100 cc. d'eau et de 20 cc. d'alcool à 95°. L'éther a été ensuite éliminé par chauffage à 38°, suivi d'une opération analogue à celle utilisée avec ASTRUC (1) pour la dessiccation des alcaloïdes.

Nous avons pu nous rendre compte que durant cette évaporation l'essence n'était pas entraînée; en effet, un papier à l'azotate d'argent ammoniacal, exposé dans le ballon, à l'obscurité, ne présentait aucune coloration brune.

L'éther complètement éliminé, une distillation à 100° était effectuée et le distillat reçu dans l'ammoniaque, en vue du dosage par le procédé officinal.

Cette méthode, par extraction à l'éther, nous a fourni des résultats plus complets que ceux obtenus par la méthode précédente, mais comparables avec ceux déjà constatés.

Voici quelques chiffres:

| MOUTARDE NOIRE DE BOMBAY         | Titre officinal 0,75 0/0   |
|----------------------------------|----------------------------|
| <i>Température de macération</i> | <i>Allylsénévol dégagé</i> |
| 20° .....                        | 0,30 %                     |
| 50° .....                        | 0,58                       |
| 60° .....                        | 0,63                       |
| 70° .....                        | 0,71                       |
| 75° .....                        | 0,00                       |

---

(1) ASTRUC (A.) et MOUSSERON (M.). — Congrès de l'A. F. A. S. Bordeaux, 1923. — *Bull. Sud-Est*, nov.-déc. 1923, p. 15.

L'éther est chassé par un courant d'air violent produit à la surface du liquide.

MOUTARDE NOIRE D'ABYSSINIE      Titre officinal 0,84 %  
*Température de macération*      *Allylsénévol dégagé*

|           |        |
|-----------|--------|
| 20° ..... | 0,32 % |
| 50° ..... | 0,60   |
| 60° ..... | 0,68   |
| 70° ..... | 0,77   |
| 75° ..... | 0,00   |

MOUTARDE NOIRE DU LEVANT      Titre officinal 1,15 %  
*Température de macération*      *Allylsénévol dégagé*

|           |        |
|-----------|--------|
| 20° ..... | 0,47 % |
| 50° ..... | 0,83   |
| 60° ..... | 0,96   |
| 70° ..... | 1,07   |
| 75° ..... | 0,00   |

MOUTARDE NOIRE DE CALCUTTA      Titre officinal 0,48 0/0  
*Température de macération*      *Allylsénévol dégagé*

|           |        |
|-----------|--------|
| 20° ..... | 0,25 % |
| 50° ..... | 0,34   |
| 60° ..... | 0,39   |
| 70° ..... | 0,43   |
| 75° ..... | 0,00   |

Examinons si, comme précédemment, la distillation ultérieure à 100° fournit un dégagement complémentaire en essence qui, additionné aux chiffres obtenus, donnait le titre Codex.

Un fait se dégage nettement. Le résidu de la macération aqueuse, traité par l'éther, ne fournit plus d'essence après une nouvelle heure de macération; le dosage complémentaire devient donc impossible. Pour expliquer ce résultat, l'influence du mélange éther-eau à parties égales a été comparée à celle de l'éther seul; aussi avons-nous soumis

la farine de moutarde à l'action de ces deux liquides. Après une heure, la substance a été filtrée et exposée à l'air. Durant ce traitement, aucun dégagement d'essence ne s'est produit, un papier à l'azotate d'argent ammoniacal ne brunissant pas.

Les moutardes ainsi manipulées ont été soumises à une macération aqueuse; seule celle traitée uniquement par l'éther a fourni un dégagement d'allylsénévol.

De plus, la farine de moutarde ayant subi l'action du mélange éther-eau n'a pas donné d'essence après addition, soit de myrosine, soit de myronate; l'action combinée de l'eau et de l'éther a donc pu déterminer la dissolution du glucoside ou du ferment. Pour éclaircir ce point, la couche aqueuse du filtrat a été séparée et additionnée d'un macéré de moutarde blanche; un dégagement très net d'essence a été provoqué.

Il semble donc que le mélange éther-eau produise une double action: destruction de la myrosine, alors que l'éther seul ne la produit pas, et dissolution du glucoside dans la portion aqueuse.

#### DÉPLACEMENT PAR UN COURANT D'AIR

Comme dans les deux méthodes précédentes, des macérations aqueuses à 5 %, durant une heure, ont été effectuées à diverses températures, en nous entourant de toutes les précautions déjà indiquées.

L'appareil utilisé était monté de la façon suivante:

Un ballon de 250 cc., contenant la suspension de farine de moutarde, était fermé par un bouchon traversé par deux tubes de verre, l'un pénétrant jusqu'au fond, l'autre débouchant au-dessous du bouchon. Ce dernier tube était assemblé à une série de deux ballons contenant chacun

10 cc. d'ammoniaque et montés d'une façon identique au premier; enfin, l'ensemble était réuni à une trompe à eau.

La macération terminée, nous procédions à une lente aspiration, de façon à éviter toute perte en essence. L'allylsénévol déplacé se combinait à l'ammoniaque; le dosage était ensuite terminé, suivant la méthode du Codex.

Le courant d'air entraînait-il la totalité de l'essence dégagée? Pour nous en assurer, la macération a été traitée par l'éther en appliquant la deuxième méthode; nous avons pu montrer ainsi que le déplacement était complet.

Dans une autre série d'essais, ayant soumis le résidu de la macération à une distillation à 100°, suivant le procédé officinal et déterminé le dégagement complémentaire en essence, le résultat obtenu a été ajouté au précédent, ce qui a fourni un chiffre voisin de celui donné par la méthode officielle

Voici quelques résultats:

| MOUTARDE NOIRE DU LEVANT  |        | Titre officinal 1,15 0/0 |                               |
|---------------------------|--------|--------------------------|-------------------------------|
| Température de macération |        | Allylsénévol dégagé      | Distillation du résidu à 100° |
| 20°                       | 0,44 % | 0,66                     | %                             |
| 50°                       | 0,80   | 0,33                     |                               |
| 70°                       | 1,04   | 0,10                     |                               |

| MOUTARDE NOIRE DE BOMBAY |        | Titre officinal 0,75 % |   |
|--------------------------|--------|------------------------|---|
| 20°                      | 0,28 % | 0,44                   | % |
| 50°                      | 0,54   | 0,20                   |   |
| 70°                      | 0,70   | 0,03                   |   |

Les résultats obtenus à l'aide des trois méthodes précédemment envisagées sont comparables entre eux; aussi nous est-il possible de tirer quelques conclusions déjà formulées avec ASTRUC (1):

---

(1) ASTRUC (A.) et MOUSSERON (M.). — *Journ. Pharm. et Chim.* (8), t. v, p. 313.

1° Le dosage officinal de l'essence de moutarde fournit la totalité qui se trouve dans la farine de moutarde, par suite de son dégagement complet et de son parfait entraînement à la température de l'ébullition.

2° Les macérations de farine de moutarde, effectuées à des températures peu élevées, ne libèrent pas toute l'essence, celle-ci se dégageant seulement lors du dosage officinal, lorsque la température monte peu à peu, pour arriver à la distillation ordinaire du liquide aqueux.

3° Contrairement à ce qui est admis jusqu'ici, il est nécessaire de porter la moutarde à une température voisine de 70°, pour que son action thérapeutique devienne maxima, c'est-à-dire que l'allylsénévol soit dégagé en proportion satisfaisante; et ceci provient, sans doute, de l'action préservatrice des produits mucilagineux et autres qui accompagnent ferment et glucoside et empêchent une réaction rapide.

4° L'éther a une action inhibitrice très nette sur la production de l'essence de moutarde.

Nous ajouterons encore :

Nos observations vont à l'encontre de ce qui a été écrit jusqu'ici dans tous les livres, à savoir que les préparations à base de moutarde doivent être faites à la température ordinaire ou tout au plus tiède; nous montrons que ce sont là de mauvaises conditions de dégagement de l'allylsénévol.

Il découle de ces recherches que si certaines moutardes servant à préparer les cataplasmes sinapisés ne donnent pas de révulsion suffisante, cela peut être dû à une température trop peu élevée de préparation et d'application, plutôt qu'à une trop faible teneur en essence, étant donné que le dosage officinal de l'allylsénévol les fait déclarer conformes au Codex.

Enfin, nous devons signaler avoir effectué de semblables essais à partir de farines de moutarde déshuilées par certains solvants déjà mentionnés : éther, sulfure de carbone, trichloréthylène, les résultats obtenus sont en tous points comparables aux précédents.

---

## CHAPITRE II

### SUR LES DIVERS FERMENTS SOLUBLES CONTENUS DANS LES GRAINES DE BRASSICA NIGRA ET SINAPIS ALBA

Les diastases jouent un rôle prépondérant dans les phénomènes de digestion cellulaire et d'assimilation; c'est grâce à elles que certaines substances entrent en solution et peuvent cheminer dans le végétal.

Aussi était-il intéressant de déterminer les ferments qui se trouvent dans les graines de moutarde noire. Comparativement, nous rechercherons les diastases présentes dans les graines de moutarde blanche.

Indiquons donc les ferments reconnus et les méthodes utilisées pour les différencier (1); de plus, nous montrons les raisons pour lesquelles certains ferments, tels que sucrase et amylase, ont été caractérisés.

#### RECHERCHE DE L'INVERTINE

Nous avons été conduit à chercher l'invertine pour la raison suivante:

Une macération aqueuse à 5 % de farine de moutarde

---

(1) Voir également ASTRUC (A) et MOUSSERON (M.). C. R. Ac. Sc., t. CLXXXIV, p. 126.

était effectuée; nous dosions comparativement l'allylsénévol par le procédé officinal et le glucose par la méthode de BERTRAND, après une heure, les résultats suivants ont été obtenus:

|                    |            |
|--------------------|------------|
| Allylsénévol ..... | 0 gr. 50 % |
| Glucose .....      | 2 gr. 30   |

Or, l'équation établie par BUSSY: myronate de potasse + eau = allylsénévol + glucose + bisulfate de potasse, montre que pour 0 gr. 50 d'allylsénévol il doit se former 0 gr. 90 de glucose.

D'où provient cette différence?

Peut-être à la présence d'un sucre réducteur.

Aussi avons-nous soumis la farine de moutarde à une digestion à l'aide d'eau bouillante; le filtrat ne réduisant que très faiblement la liqueur cupro-potassique, nous pouvions conclure à la présence de traces de sucre réducteur. La méthode préconisée par AMBARD (1) nous a permis de déterminer la proportion de ce dernier.

Le principe de ce dosage est identique à celui utilisé par BERTRAND, mais la limite de sensibilité est abaissée de 10 mgr. à 1 mgr. de sucre réducteur — 5 cc. d'un digesté aqueux à 10 % de moutarde effectué à 100° ont été placés dans un tube à centrifugeuse, additionnés de 5 cc. de liqueur cupro, portés au bain-marie bouillant durant quelques minutes, puis refroidis. Après centrifugation, décantation et traitement au sulfate ferrique, un titrage manganométrique, à l'aide d'une solution de  $\text{MnO}^+\text{K}$ , à 1,25 %, a fourni le taux de glucide.

C'est ainsi que nous avons trouvé une teneur en sucre réducteur égale à 0 gr. 35 % de moutarde.

Il restait donc à établir si la différence des quantités de

---

(1) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. II, 1920, p. 203.

glucose 2 gr. 30 et 0 gr. 90 ne provenait pas d'une origine diastasique, sous l'influence de l'invertine par exemple.

Aussi, laissant la réaction précédente se poursuivre, le sucre interverti était dosé 24 heures après, à l'aide de la méthode de BERTRAND; nous trouvions ainsi 3 gr. 10 rapporté à 100 grammes de substance; l'action fermentaire provoquant une hydrolyse continue était donc bien démontrée.

Avions-nous de l'invertine en présence?

Il était facile de répondre, en examinant si le ferment était capable d'hydrolyser le saccharose en fournissant du glucose et du lévulose.

Pour vérifier ce fait, deux macérations aqueuses à 5 %, durant 15 heures, à 37°, ont été réalisées: l'une sans addition de saccharose, l'autre en présence de 1 gramme de ce corps pur. Les résultats obtenus ont été les suivants:

*Macération à 5 %, durant 15 heures, à 37°:*

Sans saccharose .... 0 gr. 26 sucre réducteur.

Avec saccharose .... 0 gr. 52 sucre réducteur

Nous pouvions donc conclure à la présence d'invertine (1).

Les nombreux essais réalisés avec divers échantillons de moutarde noire ont fourni des résultats comparables.

A quelle température l'action de l'invertine était-elle annihilée?

Nous avons réalisé une macération à 5 % durant une heure, à l'aide d'eau portée au préalable à 90°, température à laquelle la myrosine est détruite (2); un dosage

---

(1) L'hydrolyse du saccharose était totale au bout de 72 heures.

(2) Nous avons observé que le papier à l'azotate d'argent ammoniacal ne brunissait pas.

BERTRAND a fourni 0 gr. 25 de sucre interverti; c'est donc que l'invertine était encore active à 90°.

Une macération identique, mais effectuée à 93°, ne provoquait plus qu'une très faible réduction de la liqueur cupro-potassique, provenant du sucre réducteur; l'invertine était donc tuée à cette température.

Le ferment a été détruit à une température de beaucoup supérieure à celle admise, soit 76°. Cette résistance est probablement due au mucilage enrobant la sucrase et la protégeant.

Déterminons maintenant le glucide hydrolysé par l'invertine.

Avant d'utiliser une méthode générale, recherchons le saccharose, le raffinose, le stachyose.

Ce sont, en effet, les glucides les plus répandus dans le règne végétal et en particulier dans les graines, comme l'ont montré HÉRISSEY et SIBASSIÉ (1).

Déjà, en 1890, SCHULZE et VON PLATA (2) découvrent un tétrasaccharide, le stachyose, que TANRET (3) caractérisa définitivement; en 1894, SCHULZE et FRANKFURT (4) signalent le saccharose dans diverses graines; en 1909, BOURQUELOT et BRIDEL (5) mettent en évidence un trisaccharide, le raffinose, dans deux semences.

Ces trois polysaccharides sont hydrolysés par l'invertine en donnant les produits de dédoublement suivants:

Saccharose —→ glucose + fructose.

Raffinose —→ glucose + fructose + galactose.

Stachyose —→ glucose + fructose + galactose +  
galactose.

---

(1) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. xxx, p. 345.

(2) *D. ch. G.*, t. xxiii, p. 1692; t. xxiv, p. 2705.

(3) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xiii, p. 176.

(4) *D. ch. G.*, t. xxvii, p. 62.

(5) *Journ. Pharm. et Chim.* (6), t. xxx, p. 162.

Ainsi donc, seul le saccharose ne fournit pas de galactose par dédoublement; aussi convenait-il tout d'abord de rechercher ce monosaccharide après hydrolyse.

Nous avons réalisé une digestion de poudre de moutarde à l'aide d'eau, portée au préalable à 95°; le filtrat refroidi a été additionné de solution sucrasique et porté 24 heures à 37°; il suffisait, après ce temps écoulé, d'examiner cette liqueur à deux points de vue différents:

1° Une portion a été traitée par la phénylhydrazine en milieu acétique, puis portée au bain-marie bouillant, durant une demi-heure; l'osazone ainsi formée a été séparée puis lavée à l'alcool méthylique (1); son point de fusion instantané de 229° était fort voisin de celui de la glucosazone (2). C'est donc que le polysaccharide hydrolysé était du saccharose (le fructose fournit une osazone identique à la glucosazone).

Cette étude physique a été ensuite complétée par des essais chimiques.

2° L'autre partie du liquide hydrolysé a été évaporée à siccité au bain-marie, le résidu repris par 5 cc. d'acide azotique dilué au tiers, puis la solution amenée à sec et traitée par 5 cc. d'eau distillée. L'addition d'un excès d'eau à cette solution limpide n'a provoqué aucun trouble, ce qui montre l'absence d'acide mucique; d'où celle du galactose, ce composé ne se formant qu'aux dépens de ce glucide (3).

Il ne s'est donc pas produit de galactose durant l'hydrolyse; aussi pouvons-nous conclure à l'absence du raffinose et stachyose et penser à la présence du saccharose; c'est

---

(1) La glucosazone et la galactosazone sont insolubles dans l'alcool méthylique.

(2) Le point de fusion de la glucosazone est de 230°; celui de la galactosazone de 214°.

(3) Guide Chimie biologique, par BERTRAND et THOMAS, p. 70.

d'ailleurs ce que la méthode générale de séparation des sucres va confirmer.

En vue de ces recherches, 300 grammes de graines de moutarde réduites en poudre ont été traitées à deux reprises par quatre fois leur poids d'alcool fort. Après filtration et défécation au sous-acétate de plomb, l'excès de plomb a été éliminé par l'acide sulfurique dilué, et le filtrat additionné d'un excès d'hydrate de baryte.

La liqueur filtrée a été traitée par quatre fois son volume d'alcool à 90°; le précipité barytique recueilli, mis en suspension dans l'eau, soumis à un courant prolongé de gaz carbonique; puis le filtrat a été concentré sous pression réduite, repris plusieurs fois par l'alcool à 80°, à l'ébullition et à reflux.

La solution alcoolique, abandonnée à cristallisation après évaporation, a fourni des cristaux que nous avons purifiés par recristallisation.

Déterminons le pouvoir rotatoire spécifique de ce glucide. Ayant préparé une solution à 4 %, nous l'avons examinée polarimétriquement, ce qui nous a donné une déviation de 5°10, d'où

$$\alpha_p = \frac{5^{\circ}10 \times 100}{2 \times 4} = 63^{\circ}76$$

Or, pour le saccharose  $\alpha_p = 66^{\circ}75$

Raffinose ..... 104°

Stachyose ..... 132°20

Le sucre examiné présente un pouvoir rotatoire voisin du saccharose; c'est donc ce glucide qui se trouve présent dans *Brassica nigra*, ce que nous avons d'ailleurs montré précédemment.

Complétons cette étude en indiquant que les graines de *Sinapis Alba* renferment également de l'invertine.

## RECHERCHE DE L'AMYLASE ET DE LA MALTASE

En 1908 GRÉLOT (1) écrivait :

« Si on délaie de la farine de moutarde, très finement pulvérisée, dans de l'eau froide, et qu'on filtre, le liquide filtré, additionné en quantité convenable de solution d'iode ioduré donne, au bout de 5 à 10 minutes, une teinte violacée intermédiaire entre la teinte bleue que donne l'amidon et la teinte rouge-brun que donne la dextrine, dans les mêmes conditions. Il y a donc, dans la graine de moutarde, une substance voisine de l'amidon, soluble dans l'eau froide ».

Ne pouvions-nous pas songer, en lisant ces lignes, que la formation de dextrine pouvait être due à la présence d'amylase ?

C'est la raison pour laquelle nous avons recherché ce ferment qui, on le sait, est capable de saccharifier l'amidon en donnant de la dextrine et du maltose.

Il a donc été réalisé deux macérations aqueuses à 5 %, durant 15 heures, à 37°, avec et sans empois d'amidon à 2 %. Voici les résultats obtenus :

*Macération à 5 %, durant 15 heures, à 37°*

Sans amidon . . . . . 0 gr. 26 sucre réducteur

Avec 2 gr. amidon . . . . . 0 gr. 72 sucre réducteur

Nous montrons ainsi qu'il existe de l'amylase, et cela dans toutes les graines de diverses provenances. Notons, en passant, que l'empois ne possédait aucune propriété réductrice vis-à-vis de la liqueur cupro-potassique, et que l'acidité due au bisulfate de potasse formé dans la réaction diastasique, ne provoquait pas la saccharification de

---

(1) *Bull. Sc. Pharm.*, t. xv, p. 210.

l'amidon. L'invertine ne possédant pas d'action hydrolysante sur le maltose formé à partir de l'amylase agissant sur l'amidon, nous devons retrouver le maltose et pouvoir le caractériser, soit par le point de fusion de son osazone, soit par les propriétés de solubilité de cette dernière.

L'hydrolysât précédent fournit une osazone possédant un point de fusion instantané de  $228^{\circ}$ , donc très voisin de celui de la glucosazone,  $230^{\circ}$ . Or, la maltosazone fond à  $206^{\circ}$ , c'est donc que le glucide formé est du glucose et non du maltose.

D'autre part, l'examen microscopique a montré la présence de cristaux en branches de genêt (glucosazone) et non des rosaces (maltosazone).

C'est donc que le terme ultime de l'hydrolyse est non pas du maltose, mais du glucose.

Comparativement à cet essai physique, la méthode de GRIMBERT (1) ayant pour but de différencier les osazones a été appliquée.

L'osazone obtenue, purifiée par lavage avec cent fois son poids d'eau chaude, est lavée à nouveau à la benzine après dessiccation. Le produit sec est alors trituré dans un petit mortier en verre, avec dix fois son poids d'acétone diluée au demi. Après quelques minutes de contact, nous avons filtré sur papier humecté d'acétone puis évaporé le filtrat, ce qui n'a donné aucun résidu; or, seule la maltosazone est soluble; de plus, le point de fusion de la partie insoluble était de  $228^{\circ}$ . C'est donc que le liquide d'hydrolyse ne contenait pas de maltose, mais uniquement du glucose.

Le dissaccharide maltose, formé par l'amylase, agissant sur l'amidon, s'est donc dédoublé en donnant du glucose, et cela grâce à un autre ferment: la maltase.

---

(1) *Journ. Pharm. et Chim.* (6), t. xvii, p. 225.

Pour confirmer sa présence, nous avons utilisé la méthode biochimique.

Le filtrat d'une macération aqueuse de poudre de moutarde a été additionné de 0 gr. 500 de maltose et l'ensemble porté à l'étuve à 37°, durant 24 heures; ce temps écoulé, l'osazone (1) a été préparée; son point de fusion était 227°; de plus, traitée par le procédé de GRIMBERT, elle ne paraissait être seulement formée que de glucosazone, non souillée de maltosazone.

Concluons donc à la présence de maltase à côté d'amy-lase, hydrolysant le maltose en deux molécules de glucose.

Ce résultat a été observé pour tous les échantillons de moutarde noire examinés, ainsi que pour les différentes graines de moutarde blanche.

#### RECHERCHE DE L'ÉMULSINE

Il peut être intéressant de rechercher le ferment émulsine si voisin de la myrosine.

Pour cette détermination, un macéré de graine de moutarde a été additionné d'amygdaline et porté à 37°. Un papier picro-sodé de GUIGNARD, placé dans l'atmosphère du ballon, hermétiquement fermé, permettait de reconnaître la présence d'acide cyanhydrique prenant naissance par hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine. Après avoir vérifié auparavant que l'essence de moutarde n'avait aucune action sur le papier de GUIGNARD, même au bout d'un long temps, nous avons observé une coloration rouge du papier après dix minutes environ, avec toutes les sortes de moutarde noire étudiées, mais il n'en

---

(1) La maltosazone étant assez soluble dans l'eau bouillante et très soluble dans l'alcool méthylique, nous l'avons purifiée par lavage à l'eau froide.

était pas de même avec les graines de moutarde blanche qui ne provoquaient qu'une légère teinte rose après plusieurs heures. Il était donc possible de conclure à la présence d'émulsine dans les graines de *Brassica nigra* et à des proportions infiniment faibles de ce ferment dans les graines de *Sinapis Alba*.

#### RECHERCHE D'UNE LIPASE ET D'UNE ÉTHÉRISE

Nous ferons une différence entre ces deux ferments, fort voisins cependant; le premier agissant sur les corps gras, le second n'ayant pas d'action sur les graisses neutres, mais saponifiant les mono-éthers de la glycérine, en particulier la mono-butyryne.

I. — La *lipase* a été recherchée de la manière suivante: 5 grammes de poudre de moutarde ont été broyés soigneusement au mortier, avec 5 grammes d'huile de coton neutre ou mieux d'huile de moutarde, et 5 cc. d'eau. Après une heure de contact, on ajoute 20 cc. d'alcool, on transvase dans un verre à saturation et on lave le mortier. On titre alors par  $\text{Na OH } \frac{\text{N}}{10}$  en présence de phthaléine, ce qui a donné 4 cc. 3; comparativement un témoin sans huile a fourni 4 cc. 1.

Ces chiffres, presque identiques, montrent donc qu'il n'y a pas eu saponification et prouvent l'absence de lipase.

Mais, d'autre part, si la lipase pancréatique agit mieux en milieu alcalin, la lipase du ricin est favorisée par la présence d'un certain degré d'acidité; aussi avons-nous réalisé un essai semblable au précédent avec 3 cc.  $\text{SO}^4\text{H}^2$

$\frac{\text{N}}{10}$  Ici, encore, la saponification ne s'est pas effectuée.

II. — *L'éthérase* a été recherchée en plaçant dans un flacon à émeri, à large ouverture de 125 cc: 0 cc. 5 de monobutyryne, 25 cc. d'eau, II gouttes de phtaléine, puis de la soude  $\frac{N}{10}$  pour obtenir une teinte rose, et enfin 5 grammes de moutarde finement pulvérisée. Après une agitation énergique le récipient a été porté à 37° durant une heure; ayant ensuite ajouté 75 cc. d'eau, filtré et prélevé 50 cc., nous avons procédé à un dosage acidimétrique à l'aide de soude  $\frac{N}{20}$ .

Un essai témoin, sans addition de monobutyryne, a été réalisé parallèlement; voici les résultats:

|                                |         |                      |
|--------------------------------|---------|----------------------|
| Macération avec monobutyryne.. | 4 cc. 0 | Na OH $\frac{N}{20}$ |
| — sans — ..                    | 3 cc. 9 |                      |

Il n'y a pas d'acide butyrique mis en liberté, donc pas d'éthérase. Les chiffres obtenus avec la moutarde blanche sont comparables, tant au point de vue lipase qu'éthérase.

#### RECHERCHE D'UNE CASÉASE

La présure se rencontre fréquemment dans les graines, aussi l'avons-nous recherchée.

Le lab-ferment ayant la propriété de coaguler le lait, en particulier vers 45°, un macéré filtré de moutarde a été additionné à du lait et porté au bain-marie à cette température; il s'est produit une caséification après quelques minutes; mais cette coagulation avait-elle bien une origine diastasique. Pour le montrer, il suffisait de réaliser un essai semblable avec un macéré préalablement porté à l'ébullition; celui-ci n'a pas fourni de caséification.

Notons, en passant, que l'allylsénévol ne possède aucune influence sur la formation du caillot.

De ces expériences, nous pouvons conclure à la présence de caséase chez *Brassica nigra* et *Sinapis Alba*.

#### RECHERCHE D'UNE URÉASE

Ce ferment est assez peu répandu dans le règne végétal; cependant, il se rencontre dans les graines de soja.

Il est capable de fixer de l'eau sur l'urée pour le transformer en carbonate d'ammonium; une certaine proportion d'acide sera donc neutralisée par un milieu urée-uréase; aussi avons-nous réalisé les essais suivants à partir d'un macéré aqueux de moutarde noire à 15 %.

10 cc. macéré + 10 cc. urée  $\frac{N}{5}$  1 h. + 10 cc.  $SO^4H^2$   $\frac{N}{10}$

— macéré porté à l'ébullition —————

Le titrage de l'excès d'acide par Na OH  $\frac{N}{10}$  a donné:

11 cc. 0. .... Na OH  $\frac{N}{10}$

11 cc. 1. .... —————

Ceci démontre nettement l'absence d'uréase, aussi bien chez *Brassica nigra* que chez *Sinapis alba*.

#### RECHERCHE D'UNE GLYCÉROPHOSPHATASE

Ce ferment, mis en évidence par NEMEC (1); a pour propriété d'hydrolyser l'acide glycérophosphorique pour donner de l'acide phosphorique.

Les essais ont été réalisés avec le glycérophosphate de soude  $\alpha$ , le sel  $\beta$  possédant une vitesse d'hydrolyse identique, comme l'ont montré FLEURY et SUTU (2).

(1) *Biochem Zeit.*, t. cxxxvii, p. 570.

(2) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxx, p. 176.

Cette diastase a été recherchée en préparant une macération aqueuse à 5 % de graines de moutarde noire, en présence de 0 gr. 500 de glycérphosphate de soude. Après 24 heures, nous avons filtré, puis traité par 5 cc. d'acide acétique et filtré à nouveau sur kaolin, pour avoir un liquide limpide.

Le filtrat a été ensuite additionné de 5 cc. de sulfate de magnésie au 1/10<sup>e</sup>, en présence de chlorure d'ammonium et d'ammoniaque.

Ayant obtenu dans ces conditions un précipité de phosphate ammoniaco-magnésien, l'hydrolyse du glycérphosphate par une glycérphosphatase était démontrée.

Les résultats ont été identiques avec les graines de moutarde blanche. D'autre part, quoique la plupart des diastases soient spécifiques, nous avons examiné si l'invertine ou l'amylase ne possédaient pas une action hydrolysante vis-à-vis de l'acide glycérphosphorique: il n'en est rien, ces deux ferments ne provoquant pas la formation d'acide phosphorique (1).

#### RECHERCHE DES OXYDASES

A côté de ces différentes hydratases, ne se trouvait-il pas des oxydases?

Nous allons les rechercher:

1°. A 10 cc. d'un macéré filtré de moutarde noire, on ajoute 5 cc. d'une solution saturée à froid de gaïacol (2); aucune coloration rouge ne s'est produite, même après un certain temps; c'est donc qu'il n'existe pas d'oxydase directe ou *aéroxydase*.

---

(1) L'invertine contenant  $P^2O^5$ , nous avons réalisé un essai témoin.

(2) Nous avons examiné parallèlement les réactions produites avec la teinture récente de résine de gaïac.

2° Après addition de II gouttes d'eau oxygénée à ce mélange, on a obtenu une coloration rouge, due à la formation de tétragaïaquinone, s'accroissant avec le temps; c'est la preuve de la présence d'une oxydase indirecte ou anaéroxydase.

Indiquons que le macéré de moutarde blanche n'a fourni qu'une faible teinte rose, ne décelant que des traces d'anaéroxydase.

3° La *tyrosinase* ayant la propriété de fournir avec la tyrosine une coloration rouge, provoquée par oxydation, a été recherchée. L'absence de toute teinte, même après plusieurs heures, montre que ce ferment n'existe ni chez *Brassica nigra* ni chez *Sinapis alba*.

4° Existait-il une *catalase* capable de décomposer l'eau oxygénée avec mise en liberté d'oxygène, ne manifestant pas de réactions oxydantes particulières? La recherche a été réalisée en mettant en présence un macéré de moutarde et de l'eau oxygénée dans un uréomètre d'ESBACH; le volume n'ayant pas varié, l'absence de ce ferment pour les deux sortes de moutarde était démontrée.

#### CONCLUSIONS

A côté de la myrosine, de nombreux ferments existent dans les graines de *Brassica nigra*, tels que: invertine, amylase, maltase, émulsine, caséase, glycérophosphatase, anaéroxydase.

Cependant, nous n'avons pas pu déceler: lipase, éthérase, uréase, aéroxydase, tyrosinase et catalase. Indiquons, de plus, que les résultats obtenus avec les graines de *Sinapis alba* sont comparables aux précédents, mais que, émulsine et anaéroxydase ne s'y rencontrent qu'à l'état de traces.

## CHAPITRE III

### ETUDE COMPARATIVE DES CENDRES DE BRASSICA NIGRA ET DE SINAPIS ALBA

La composition des cendres varie avec la nature du sol sur lequel croît le végétal; cependant, certains éléments constructeurs s'y rencontrent constamment; c'est ainsi que l'on trouve toujours: la silice, l'acide phosphorique, l'acide sulfurique, le magnésium, le calcium, le potassium, ainsi que le sodium, comme l'ont montré tout récemment BERTRAND et PERIETZEANU (1).

D'autre part, certains éléments, tels que fer et manganèse, paraissent être indispensables à la vie de la plante. Enfin, d'autres substances, telles que le cuivre, le zinc, le nickel, le cobalt, le bore, se trouvant à dose infiniment faible, semblent posséder une action catalytique (2), tout comme le fer et le manganèse jouent le rôle de co-ferment pour certaines oxydases.

Indiquons brièvement les principes des méthodes utilisées en vue du dosage de ces divers éléments, puis nous comparerons les résultats entre eux.

---

(1) C. R. Ac. Sc., t. CLXXXIV, p. 645.

(2) GALLAGHER. — *Biochem Journ.*, t. XVIII, 1924, p. 39.

### SILICE.

On traite 1 gramme de cendres par l'acide chlorhydrique concentré au bain-marie bouillant, jusqu'à élimination totale de l'excès d'acide; le résidu est additionné d'eau faiblement chlorhydrique et chauffé; on filtre, on calcine au rouge et on pèse la silice.

### ACIDE SULFURIQUE.

Le filtrat précédent est additionné d'eau, puis traité par une solution de chlorure de baryum; le précipité de sulfate de baryte est recueilli, puis lavé et calciné, filtre à part.

### ACIDE PHOSPHORIQUE.

On traite 0 gr. 500 de cendres par l'acide azotique au bain-marie, pour insolubiliser la silice; on reprend, par un peu d'eau acidulée et on filtre; le filtrat est additionné d'un excès de nitro-molybdate d'ammonium et abandonné 12 heures. Le précipité de phospho-molybdate est dissous dans l'ammoniaque et la solution traitée par la mixture magnésienne. Le précipité de phosphate ammoniac-magnésien est recueilli après 12 heures, lavé à l'eau ammoniacale et transformé en pyrophosphate de magnésie par calcination, d'où l'on déduit le taux de  $P^2O^5$ .

### CALCIUM. — MAGNÉSIUM.

La technique suivie est celle indiquée par CANALS (1). On élimine la silice de 0 gr. 200 de cendres, on reprend par l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique et on filtre. Le filtrat est alcalinisé par l'ammoniaque, puis acidifié par l'acide acétique et agité deux minutes; on filtre, on rince;

---

(1) Thèse. Paris, 1920, p. 71.

le liquide filtré est porté près de l'ébullition et traité par l'oxalate d'ammonium; le précipité lavé est dissous dans l'acide sulfurique à 5 %; l'acide oxalique libéré est dosé manganométriquement, ce qui fournit la teneur en calcium.

Le liquide séparé de l'oxalate de chaux est concentré, puis traité par l'ammoniaque, le chlorure d'ammonium et le phosphate de soude; on agite et on abandonne 12 heures; le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien est filtré, lavé à l'eau ammoniacale, puis dissous dans le minimum d'acide chlorhydrique à 10 % et dosé à chaud par la liqueur d'urane, en milieu acétique, en présence de cochenille.

#### POTASSIUM.

0 gr. 250 de cendres, obtenues en deux temps, suivant la méthode de BERTRAND (1), sont lessivées à l'eau bouillante; le filtrat, neutralisé par l'acide chlorhydrique, est concentré, additionné d'un excès de chlorure de platine, puis évaporé lentement au bain-marie, à consistance sirupeuse; le résidu est repris par un mélange d'alcool-éther; le précipité de chlorure double de platine et de potassium est filtré après quelques heures, puis lavé à l'alcool, séché et calciné en présence d'acide oxalique; le poids de platine fournit la quantité de potassium.

#### SODIUM.

La technique de dosage utilisée est celle de BLANCHETIÈRE (2), basée sur la réaction de STRENG (3), c'est-à-dire sur la précipitation d'acétate triple d'urane, de magnésium et de sodium; cette méthode a été appliquée par BARTHE et DUFILHO (4) pour le dosage du sodium dans les eaux

---

(1) Guide Chimie Biologique, par BERTRAND ET THOMAS, p. 41.

(2) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxiii, p. 807.

(3) *Zeit. Anal. Chem.*, 1884, t. xxiii, p. 115.

(4) *Bull. Pharm. Bordeaux*, 1926, p. 162.

minérales et les liquides biologiques, puis par BERTRAND et PERIETZEANU (1) pour déterminer la teneur en sodium des cendres végétales.

0 gr. 200 de cendres obtenues comme précédemment ont été lessivées à l'eau bouillante; le filtrat évaporé dans une capsule en platine, jusqu'à 5 cc. environ, a été additionné d'acétate d'urane et centrifugé pour éliminer l'acide phosphorique, puis traité par le mélange urano-magnésien; les cristaux d'acétate triple, formés par agitation, ont été recueillis après trente minutes sur double filtres tarés, lavés avec le réactif précipitant, puis à l'alcool, séchés à 110° et pesés. Le poids trouvé fournit le taux de sodium.

Groupons dans le tableau ci-après les résultats obtenus avec les graines de moutarde de diverses provenances.

| MOUTARDES<br>(Origine) | CENDRES<br>% | GRAMMES % CENDRES |                               |                 |       |       |                  |                   |
|------------------------|--------------|-------------------|-------------------------------|-----------------|-------|-------|------------------|-------------------|
|                        |              | SiO <sup>2</sup>  | P <sup>2</sup> O <sup>5</sup> | SO <sup>3</sup> | Ca O  | Mg O  | K <sup>2</sup> O | Na <sup>2</sup> O |
| Roumanie . . .         | 5,05         | 4,30              | 38,30                         | 6,30            | 15,30 | 11,90 | 22,80            | 2,10              |
| Levant . . . .         | 5,10         | 4,70              | 35,95                         | 7,10            | 17,25 | 11,85 |                  |                   |
| Russie . . . .         | 5,20         | 5,10              | 39,50                         | 8,15            | 16,30 | 12,40 |                  |                   |
| Abyssinie . . .        | 5,00         | 5,40              | 29,35                         | 7,20            | 15,75 | 10,80 | 25,30            | 1,87              |
| Bombay . . . .         | 5,15         | 4,60              | 37,60                         | 5,75            | 15,20 | 11,50 |                  |                   |
| Calcutta . . . .       | 5,50         | 5,40              | 30,20                         | 5,80            | 17,40 | 10,80 | 24,20            | 2,25              |
| Sicile . . . . .       | 5,10         | 4,60              | 33,20                         | 6,10            | 15,60 | 11,70 |                  |                   |
| M. blanche A           | 4,30         | 3,10              | 38,60                         | 8,10            | 15,90 | 9,80  |                  |                   |
| — B                    | 4,20         | 3,50              | 36,10                         | 7,80            | 14,20 | 10,40 | 25,80            | 2,10              |
| — C                    | 4,40         | 3,20              | 37,25                         | 8,80            | 15,10 | 9,60  |                  |                   |
| — D                    | 4,70         | 2,70              | 37,15                         | 8,50            | 15,20 | 9,65  | 26,40            | 2,20              |

(1) *Loc. cit.*

Exposons maintenant, avec plus de détails, les modes de dosage des autres éléments, encore appelés « infiniment petits chimiques », selon l'expression de BERTRAND.

#### MANGANÈSE.

G. BERTRAND et MEDIGREANU (1) ont montré que ce métal est très répandu dans le règne animal; les travaux de JADIN et ASTRUC (2) ont prouvé qu'il en était de même pour le monde végétal.

La technique utilisée est celle de G. BERTRAND (3), basée sur l'oxydation du sel de manganèse en acide permanganique, grâce au persulfate de soude en milieu acide et en présence d'azotate d'argent catalysant la réaction.

On incinère 5 gr. de substance au moule réglé au rouge sombre, jusqu'à cendres presque blanches; on reprend par 1 à 2 cc. d'acide chlorhydrique concentré et on chauffe au bain-marie; la dissolution du sesquioxyde de manganèse réalisée, on ajoute de l'acide sulfurique au 1/5<sup>e</sup> et on chauffe au bain de sable, de façon à décomposer les chlorures, puis on calcine légèrement. Dans ces conditions, les sulfates étant moins fusibles que les chlorures, il est possible de brûler les dernières traces de charbon. Les cendres sont alors humectées d'acide chlorhydrique, puis traitées par quelques gouttes d'acide sulfurique, dilué au 1/5<sup>e</sup> et chauffées au bain de sable, pour éliminer la plus grosse partie d'acide. Les cendres sulfatées sont attaquées par 10 cc. d'acide azotique, dilué au 1/3; la solution filtrée est additionnée de V gouttes d'azotate d'argent au 1/10<sup>e</sup> et de 0 gr. 30 de persulfate de soude pulvérisé; on chauffe doucement, puis plus fortement, pour décomposer l'excès d'oxydant.

---

(1) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XI, p. 665.

(2) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. VII, p. 155.

(3) *Bull. Sc. Pharm.*, t. XVIII, 1911, p. 193.

La présence de manganèse est décélée par une teinte rose plus ou moins intense.

Le dosage s'effectuera en comparant les colorations obtenues avec celles fournies par des dilutions de solution de sulfate de manganèse, titrée à 0 mgr. 1 de Mn par centimètre cube.

#### FER.

Le fer est constant dans toutes les cendres végétales, mais il s'y trouve toujours en faible proportion; il semble présider au verdissement de certains tissus.

Son dosage a été effectué de la façon suivante: 2 gr. 500 de cendres ont été traitées par 1 à 2 cc. d'acide chlorhydrique vérifié exempt de fer, au bain-marie, puis reprises par quelques gouttes d'acide sulfurique au 1/5<sup>e</sup> et évaporées. Après addition d'eau acidulée et filtration, la liqueur, placée dans un ballon portant un bouchon traversé par un tube effilé, a été traitée par 50 mgr. de poudre de zinc pur et abandonnée une demi-heure.

La réduction du sel ferrique effectuée, on a procédé à un dosage manganimétrique à l'aide de  $\text{MnO}^+\text{K} \frac{\text{N}}{200}$

Le dosage proposé par GUERBET (1), basé sur la coloration rouge, fournie par la solution éthérée de sulfocyanure ferrique, nous a donné des résultats comparables.

#### CUIVRE.

Le cuivre est un élément très répandu dans les règnes animal et végétal; c'est d'ailleurs ce qu'ont montré GUÉRITHAULT (2) puis MAQUENNE et DEMOUSSY (3).

---

(1) *Bull. Sc. Pharm.*, t. XVIII, 1911, p. 686.

(2) *Bull. Sc. Pharm.*, 1911, p. 633.

(3) *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 87.

La technique de dosage suivie est celle proposée par PILGRAIN (1).

1 gr. de cendres (obtenues au moufle, avec brûleurs en fonte) sont traitées par 1 à 2 cc. d'acide azotique, puis évaporées au bain-marie et reprises par un peu d'eau acidulée par l'acide sulfurique et filtrées. La liqueur cuivrique a été ensuite additionnée de V gouttes d'acide azotique, puis placée dans un appareil à électrolyse, constitué par un entonnoir à robinet, un cylindre de toile de platine comme anode et une petite bande identique, formant cathode et pénétrant jusqu'au niveau inférieur de cet appareil.

Le liquide à électrolyser a été additionné d'acide sulfurique, en quantité suffisante pour avoir une intensité de 0 amp. 5, sous 3 volts de différence de potentiel.

Après trente minutes d'électrolyse, les électrodes ont été rincées sans arrêter le courant, jusqu'à intensité nulle, puis la cathode plongée immédiatement dans le réactif phospho-molybdique de FONTÈS et THIVOLLE. Après quarante minutes de contact, une solution de  $\text{MnO}^+\text{K}$  à 0 gr. 08 % (correspondant à 0 gr. 0805 de Cu) a été versée à l'aide d'une microburette, jusqu'à disparition de la teinte bleue.

Nous avons préféré utiliser la méthode électrolytique au procédé colorimétrique, préconisé par H. et R. IMBERT et PILGRAIN (2), basé sur la réaction de SCHOËNBEIN, à la teinture de gaïac, ce dernier étant plus délicat.

#### ZINC. — NICKEL. — COBALT.

G. BERTRAND et VLADESCO (3) ont montré que les tissus

---

(1) Th. Doct. Univ. (Pharm.), Montpellier 1925.

(2) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxv, p. 60.

(3) C. R. Ac. Sc., t. CLXXII, p. 768 et t. CLXXIII, p. 54.

animaux contiennent du zinc; de plus JAVILLIER (1) a dosé cet élément dans un grand nombre de végétaux.

G. BERTRAND et MOKRAGNATZ (2) ont examiné un certain nombre de cendres végétales, en vue de la détermination de leur teneur en nickel et cobalt.

Indiquons une méthode permettant de calculer à la fois la quantité de zinc, de nickel, de cobalt, basée sur un procédé indiqué par G. BERTRAND et JAVILLIER (3) et complété par MOKRAGNATZ.

25 grammes de cendres, obtenues suivant le procédé de BERTRAND (4), sont traitées par l'acide chlorhydrique au bain-marie, en vue de l'élimination de la silice; on reprend par l'eau chaude et on filtre; le filtrat est porté ensuite à 200 cc.

On ajoute alors un excès d'ammoniaque, puis un lait de chaux et 11 gouttes de phtaléine; on porte à l'ébullition, que l'on maintient jusqu'à ce que les vapeurs ne bleussent plus le papier de tournesol et que la liqueur soit rose, sinon on ajouterait à nouveau un lait de chaux.

Le précipité obtenu est filtré, lavé et dissous dans l'acide chlorhydrique, dilué au 1/10<sup>e</sup>; la solution, chauffée légèrement, est traitée par un courant d'hydrogène sulfuré, puis abandonnée quelques heures; le sulfure de cuivre floccule et après dissolution dans l'acide azotique, on le dose électrolytiquement, comme précédemment.

Le filtrat, séparé du sulfure de cuivre, est évaporé à sec, puis repris par l'eau, traité par l'ammoniaque et filtré; la liqueur est additionnée d'acide chlorhydrique, jusqu'à réaction faiblement acide, puis d'ammoniaque et de

---

(1) *Bull. Sc. Pharm.*, t. xv, 1908, p. 559.

(2) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxiii, p. 1539.

(3) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. i, p. 63 et t. iii, p. 114.

(4) *Guide Chimie biologique*, par BERTRAND et THOMAS, p. 41.

L gouttes d'acide citrique au 1/10°. Après avoir fait passer l'hydrogène sulfuré durant vingt minutes, on bouche le récipient et on l'abandonne 12 heures.

Le précipité de sulfure de zinc est ensuite séparé par filtration, puis dissous dans l'acide sulfurique au 1/10° et calciné après évaporation; le poids de sulfate de zinc anhydre fournit la teneur en zinc (1).

Au filtrat, séparé du sulfure de zinc, on ajoute de l'ammoniaque et quelques gouttes de sulfure d'ammonium et on laisse au repos trois heures; le précipité noir ainsi formé est dissous dans l'eau régale. On évapore au bain-marie puis on reprend par un peu d'eau.

La solution, placée dans un tube à essais, est portée à l'ébullition et additionnée d'un excès d'une solution alcoolique au 1/100° de diméthylglyoxime et de III gouttes d'ammoniaque. Le précipité, filtré et desséché de nickel-glyoxime, est alors dissous à chaud dans un peu de chloroforme et pesé après évaporation du solvant, d'où l'on déduit la quantité de nickel.

La solution, séparée du précipité rouge, est évaporée à siccité puis calcinée pour détruire l'excès du précipitant organique, et le résidu dissous dans l'acide chlorhydrique; la solution est alors neutralisée par le carbonate de soude puis traitée par quelques gouttes d'une solution d'azotite de potassium en milieu acétique; un précipité jaune précède le cobalt, que l'on peut doser comparativement avec une solution de titre connu en cobalt, s'il se trouve en quantité suffisante.

---

(1) Les résultats ont été comparés à ceux fournis par la méthode diaphanométrie, basée sur la formation du ferrocyanure de zinc.

### BORE.

AGULHON (1) a montré que la plupart des végétaux renfermaient du bore, même à dose assez élevée. FONZES-DIACON et FABRE (2), ainsi que BORDAS et TOUPLAIN (3) ont examiné diverses eaux minérales, en vue de la recherche et du dosage de cet élément.

La méthode utilisée est celle indiquée par G. BERTRAND et AGULHON (4), basée sur la coloration que prend le papier de curcuma en présence d'acide borique.

On calcine 5 grammes de substance au rouge sombre, de façon à obtenir des cendres encore charbonneuses; ces dernières sont reprises par 1 cc. d'acide sulfurique et 10 cc. d'alcool méthylique vérifié exempt de bore. On distille sur IV gouttes de soude normale, et le résidu est à nouveau distillé après addition de 5 cc. d'alcool.

Le distillat est ensuite évaporé; le résidu, repris par l'eau légèrement chlorhydrique, est placé dans une petite capsule contenant un papier de curcuma dont l'une des extrémités ne plonge pas dans le liquide.

Après quelques heures, on mesure la longueur du papier coloré en rouge et on compare avec une solution titrée d'acide borique.

### CHROME.

Cet élément a été entrevu par DEMARÇAY, dans les cendres végétales, à l'aide de la méthode spectroscopique, préconisée par URBAIN.

Nous nous sommes proposé de le retrouver par une

---

(1) Thèse. Paris, 1910.

(2) C. R. Ac. Sc., t. CLVIII, p. 1541.

(3) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXXVI, p. 149.

(4) *Ann. Chim. analy.*, t. XV, 1910, p. 45.

méthode chimique, mise au point après de nombreux essais.

3 grammes de cendres sont soigneusement mélangées avec 5 grammes de carbonate de soude, 1 gramme de carbonate de potasse et 0 gr. 300 de chlorate de potasse; ce mélange, placé dans un creuset de platine, est chauffé jusqu'à complète fusion, que l'on maintient quelques minutes (1). Après refroidissement, on reprend par l'eau chaude et on filtre; le filtrat est neutralisé par l'acide sulfurique, puis acidifié légèrement par ce dernier.

Le chrome est passé ainsi de cation en anion, ce dernier est alors transformé en acide perchromique de la manière suivante:

Dans un tube à essais, on place 2 cc. d'eau oxygénée et 3 cc. d'éther, on ajoute la solution de chromate refroidie, et on agite doucement; la présence du chrome est décélée par une coloration bleue, plus ou moins intense, de la couche éthérée.

On peut déterminer la teneur en chrome en comparant les teintes obtenues à partir de solutions titrées de chromate de potasse.

Cette méthode, très sensible, permet de caractériser 1/100<sup>e</sup> de mgr. de chrome, suivant LEHNER.

---

(1) L'oxydation du chrome peut encore être réalisée par le persulfate de soude en milieu sulfurique, *et en l'absence d'azotate d'argent*, ce qui permet de le caractériser même en présence de manganèse, ce dernier précipitant alors à l'état d'acide métamanganoux.

Voici les résultats obtenus d'après les méthodes précédentes :

| MOUTARDES<br>(Origine) | MILLIGRAMMES ‰ CENDRES |    |     |     |         |    |     |
|------------------------|------------------------|----|-----|-----|---------|----|-----|
|                        | Mn                     | Cu | Fe. | Ni  | Co      | Zn | Bo  |
| Roumanie. . .          | 80                     | 20 | 76  |     |         |    | 160 |
| Levant. . .            | 64                     | 16 | 72  | 0,4 | présent | 18 |     |
| Russie . . .           | 80                     | 12 | 70  |     |         |    |     |
| Abyssinie . .          | 84                     | 18 | 88  |     |         |    | 140 |
| Bombay . . .           | 84                     | 16 | 92  | 0,6 | présent | 20 | 120 |
| Calcutta . . .         | 76                     | 20 | 76  |     |         |    | 130 |
| Sicile . . .           | 72                     | 22 | 87  | 0,5 | présent | 24 |     |
| M. blanche A           | 20                     | 16 | 46  |     |         |    | 170 |
| — B                    | 24                     | 14 | 40  | 0,4 | présent | 20 |     |
| — C                    | 29                     | 17 | 42  |     |         |    | 100 |
| — D                    | 26                     | 12 | 40  | 0,3 | présent | 22 |     |

### CONCLUSIONS

Les proportions de cendres sont plus fortes pour les graines de *Brassica nigra* que pour celle de *Sinapis alba*.

Les taux de CaO et MgO sont assez élevés, ce qui est la règle pour ces organes végétatifs; ils sont du même ordre pour les deux espèces; de même pour P<sup>2</sup>O<sup>5</sup> et SO<sup>3</sup>.

Nous voyons donc, en envisageant ces éléments essentiels, que les graines de moutarde, d'origines différentes, ont des cendres de compositions fort voisines. De plus, le

manganèse se trouve en proportion beaucoup plus élevée chez *B. nigra* que chez *S. alba*; peut-être y a-t-il une relation avec la valeur oxydasique, la première possédant une réaction beaucoup plus intense que la deuxième, comme nous l'avons vu au chapitre précédent.

Le fer suit les mêmes variations que le manganèse. Les autres éléments: Ni, Co, Zn, Cu, se trouvent à l'état de traces et à des taux rapprochés.

Enfin, le chrome n'a pu être décélé par la méthode chimique; cependant, s'il existe, sa teneur est inférieure à 0 mgr. 3 % de cendres.

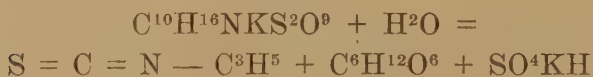
---

## CHAPITRE IV

### RECHERCHES SPECIALES SUR L'ALLYLSENEVOL METHODES UTILISEES DANS CES RECHERCHES

Nous avons déjà indiqué que la moutarde noire ne contenait pas d'huile essentielle préformée et que celle-ci prend naissance au contact de l'eau par l'action de la myrosine sur le myronate de potasse (1).

Ce dernier s'hydrolyse suivant l'équation :



L'hydrolyse du glucoside fournit donc, à côté de l'allyl-sénévol, du glucose et du bisulfate de potasse. Nos recherches porteront sur l'étude de cette réaction. Le myronate de potasse utilisé provenait de la Maison MERCK. Il se présentait en petits cristaux transparents, ne possédant aucune odeur, très solubles dans l'eau, à peine dans l'alcool fort et insolubles dans l'éther; son point de fusion instantané était de 126°.

---

(1) Ce corps cristallise avec une molécule d'eau s'éliminant à 100° dans le vide, suivant GADAMER; sa formule est la suivante:  $\text{C}^{10}\text{H}^{16}\text{NKS}^2\text{O}^9, \text{H}^2\text{O}$ .

Nous nous sommes proposé de préparer le ferment soluble suivant le procédé de Bussy (1).

Dans ce but, un macéré de moutarde blanche est filtré, puis évaporé à consistance sirupeuse, à une température ne dépassant pas 40°; la liqueur est alors additionnée d'alcool; le précipité formé est lavé, séché, puis redissous dans l'eau, la solution filtrée est évaporée.

Le produit ainsi obtenu est peu actif et s'altère avec le temps; de plus, il est peu soluble dans l'eau, aussi est-il préférable d'utiliser un procédé de préparation calqué sur celui indiqué par HÉRISSEY (2), pour l'obtention de l'émulsine.

Dans cette méthode, au macéré aqueux chloroformé de moutarde blanche, on ajoute trois fois son volume d'alcool à 95°; le précipité formé est recueilli par filtration, traité par un mélange à volumes égaux d'alcool et d'éther, puis desséché dans le vide sulfurique.

Enfin, RENVERSADE (3) préfère extraire le ferment soluble d'un macéré aqueux de *Sinapis arvensis*, auquel on ajoute de l'alcool à 90°, sans concentration préalable.

Dans nos recherches, nous avons trouvé avantageux d'utiliser un macéré de *Sinapis alba* (4), obtenu de la façon suivante:

Une macération à 37°, avec un gramme de poudre de moutarde blanche et 10 cc. d'eau, a été effectuée en présence de quelques gouttes de toluène; après 24 heures de contact, le filtrat a été traité par un courant d'air, pour chasser les traces d'allylsénévol (5) et l'hydrogène sulfuré

---

(1) *Journ. de Pharm.* (2), t. xxvi, p. 44.

(2) Th. Doct. Univ. (Pharm.). Paris, 1899, p. 44.

(3) *Union Pharm.*, 1913, p. 137.

(4) Nous avons constamment utilisé un même lot de graines de moutarde blanche.

(5) La proportion d'allylsénévol n'était que de 0,015 0/0.

ayant pris naissance. Nous avons constaté la disparition de ces corps gazeux à l'aide de papiers à l'azotate d'argent ammoniacal et à l'acétate de plomb. De plus, le filtrat a été neutralisé par la soude  $\frac{N}{10}$  en présence de phtaléine.

Pour les diverses expériences décrites ci-après, 5 cc. de liquide diastasique étaient en général utilisés.

Possédant ainsi ferment et glucoside, il était possible d'envisager, l'étude de l'équation fermentaire de Bussy; dans ce but, il fallait déterminer les proportions de produits de réaction se formant progressivement, en particulier le glucose et l'allylsénévol.

Examinons d'abord le dosage du glucose.

Nous nous sommes proposé d'effectuer les déterminations par la méthode polarimétrique, mais la liqueur se troublant rapidement par formation de soufre, la visibilité devenait nulle.

Le procédé optique étant impossible à réaliser, nous avons examiné l'application du microdosage de FONTÈS et THIVOLLE (1), basé sur le principe suivant:

Le précipité d'oxyde cuivreux provenant de la réduction de la liqueur cupro-potassique par le glucose est flocculé par le carbonate de magnésie, puis traité par le réactif phospho-molybdique, qui prend alors une teinte bleue due à la formation de sous-oxydes de molybdène; une solution de permanganate titrée, versée à l'aide d'une microburette, jusqu'à disparition de couleur bleue, fournit la teneur en glucose. Ce procédé, quoique très sensible, ne nous a pas donné satisfaction, l'alcali de la liqueur cupro décomposant le myronate restant, en fournissant plusieurs composés, entre autres du glucose.

De plus, toute défécation, capable d'éliminer le glucoside à l'aide de sels de métaux lourds, tels que: acétate de

---

(1) *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, t. III, p. 226.

plomb, azotate d'argent, azotate de mercure... le décomposent en libérant constamment du glucose.

Le dosage du sucre réducteur, en présence de myronate de potasse, est donc difficile à effectuer; aussi avons-nous songé à réaliser un microdosage d'allylsénévol, conçu et mis au point après de nombreux essais et basé sur les données suivantes:

1° *Entraînement de l'allylsénévol par les vapeurs d'eau et d'alcool (l'alcool favorisant cet entraînement);*

2° *Formation de thiosinamine en présence d'ammoniacque, puis de sulfure d'argent, à l'aide d'une solution argentique titrée;*

3° *Microdosage de l'excès d'argent.*

L'appareil utilisé est semblable à celui que PARNAS et WAGNER (1) ont indiqué pour le dosage de l'azote (microkjeldahl); il comprend: un générateur de vapeur d'eau, réuni à un ballon; un ballon à fond rond et à long col de 75 cc., incliné de façon à empêcher les projections et muni d'un entonnoir à robinet; un réfrigérant vertical, relié au ballon précédent, et terminé par un tube à boule pénétrant dans un tube à centrifugeuse.

D'autre part, l'étude de la réaction de BUSSY, comportant la détermination de la quantité d'allylsénévol en présence de ferment et glucoside, ce microdosage ne peut être réalisé qu'après destruction de la myrosine, qui pourrait continuer son action hydrolysante vis-à-vis du myronate.

Nous avons tout d'abord cherché à annihiler le ferment par différentes substances jouant le rôle de poison: cyanure de potassium, chlorure mercurique, azotate d'argent, acide salicylique..., mais l'action diastasique n'est qu'atténuée et non pas empêchée; seule, la soude, à la dose de 0 gr. 500 pour 100 cc. de liqueur fermentaire, permet

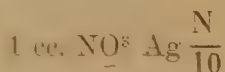
---

(1) Cité par NICLOUX, *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxv, p. 1059.

d'arrêter l'hydrolyse, mais elle se combine partiellement à l'essence déjà formée.

Aussi avons-nous songé à utiliser la propriété anti-fermentaire de l'alcool fort bouillant, appliquée par BOURQUELOT, en vue de la stabilisation des plantes (1). Possédant ainsi principe et appareil, envisageons la technique à suivre:

10 cc. d'alcool à 95° sont placés dans le ballon incliné et portés à l'ébullition. On introduit ensuite la prise d'essai, généralement 2 cc., puis on fait arriver un courant de vapeur d'eau assez violent dans ce mélange, en même temps que l'on chauffe ce dernier; les vapeurs d'eau et d'alcool entraînent l'essence et sont condensées dans un réfrigérant: le distillat est reçu dans un tube à centrifugeuse contenant:



VI gouttes  $\text{NH}_3$  conc. (2)

On poursuit la distillation jusqu'à obtention de 10 cc. environ de liquide, ce qui est réalisé en quelques minutes.

Un dispositif fort simple permet d'effectuer la vidange de l'appareil, sans le démonter, ce qui facilite le travail en série.

Le tube à centrifugeuse est ensuite porté au bain-marie à 75°, durant une demi-heure, puis le liquide est additionné de X gouttes d'acide acétique (3) et abandonné un quart d'heure dans le même thermostat; le sulfure d'argent floccule (4); on centrifuge, on filtre sur papier BER-

---

(1) L'alcool fort bouillant est sans action sur le myronate.

(2) Si la proportion d'allylsénévol est supérieure à 1 mgr., on augmentera les quantités indiquées.

(3) Le sulfure d'argent est insoluble dans l'acide acétique dilué.

(4) Si la quantité d'essence est supérieure à 0 mgr. 5, la floculation a lieu sans addition d'acide acétique.

ZELIUS, on lave trois fois avec 5 cc. d'eau distillée et on recueille le filtrat dans un petit becher.

A ce dernier, on ajoute XV gouttes d'acide azotique concentré, V gouttes d'alun de fer ammoniacal au 1/10<sup>e</sup> et on effectue un VOLHARD et CHARPENTIER (1) avec une solution de sulfocyanure d'ammonium  $\frac{N}{80}$ , versée à l'aide d'une microburette; si  $n$  est le nombre de cc. utilisés, la quantité d'allylsénévol en milligrammes, contenue dans la prise d'essai, est donnée par la relation:

$$(2 - n) \cdot 0,00062$$

Nous ne pouvons pas exposer toutes les expériences de contrôle qui nous ont permis de mettre au point ce microdosage; cependant, nous indiquerons que les résultats comparés avec ceux fournis par la macrométhode du Codex sont identiques; de plus, pour une prise d'essai de 0 mgr. 2 d'allylsénévol (proportion la plus faible que nous ayons eue à doser) l'erreur est inférieure à 3 %.

Telle est la méthode que nous proposons en vue de l'étude de l'hydrolyse du myronate de potasse par la myrosine, étude que nous allons envisager dans les chapitres suivantes qui comprendront:

l'influence du bisulfate de potasse sur la réaction diastatique myronate-myrosine;

l'influence de la température sur la formation de l'allylsénévol, la concentration en glucoside étant faible;

l'influence de la viscosité sur la protection de la myrosine et sur l'hydrolyse du myronate de potasse;

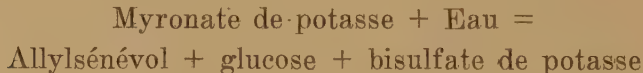
l'étude de la loi d'action de la myrosine sur le myronate de potasse.

(1) Nous avons effectué des dosages comparatifs avec la méthode de DENIGÈS; les résultats ont été identiques à ceux fournis par le procédé au sulfocyanure.

## CHAPITRE V

### INFLUENCE DU BISULFATE DE POTASSE SUR LA REACTION DIASTASIQUE MYRONATE-MYROSINE

Le microdosage d'allylsénévol a été appliqué à la décomposition du myronate de potasse par la myrosine, suivant l'équation établie par Bussy, en 1839.



En vue de ces recherches, une macération, d'une durée de 24 heures, avec un gramme de moutarde blanche et 10 cc. d'eau en présence de toluène, a été filtrée, puis le filtrat soumis à un courant d'air et neutralisé par la soude en présence de phthaléine (1).

D'autre part, nous avons introduit, dans un flacon à émeri, de contenance peu supérieure à 100 cc. : 0 gr. 200 de myronate, 5 cc. de solution diastasique précédente, complété à 100 cc. et porté à 20°. Après deux heures, un microdosage d'allylsénévol a été effectué sur 2 cc. de liquide, ce qui a fourni une proportion d'essence rapportée au volume total, égale à 27 mgr. 6.

Or, le taux théorique d'isosulfocyanate d'allyle corres-

---

(1) Voir p. 55.

pendant à 0 gr. 200 de myronate est de 47 mgr. 7. Il semble donc que les deux heures d'action de l'eau sont insuffisantes pour hydrolyser la totalité du glucoside; aussi avons-nous prolongé cette action d'une heure; un nouveau microdosage a donné un résultat presque identique au précédent: 27 mgr. 8; de plus, le taux d'allylsénévol reste invariable, même après 24 heures.

GADAMER (1) pense que la myrosine est coagulée par le bisulfate de potasse produit dans la réaction fermentaire. Nous allons examiner si l'acidité développée par l'hydrolyse de 0 gr. 200 de myronate, est suffisante pour annihiler l'action du ferment.

Pour vérifier ce point, réalisons l'expérience suivante:

Ayant placé, comme précédemment: 0 gr. 200 de myronate, 5 cc. de liqueur diastasique, complété à 100 cc. et porté à 20°, durant deux heures, il a été déterminé, par un microdosage, la proportion d'essence formée, soit 27 mgr. 6.

Ce liquide diastasique a été ensuite neutralisé par la soude  $\frac{N}{10}$ , en présence de phtaléine, de façon à saturer le bisulfate de potasse résultant de l'hydrolyse du myronate de potasse mis en expérience; puis nous avons ajouté 0 gr. 200 de nouveau glucoside et abandonné encore deux heures; le taux d'essence formée a été de 53 mgr. 8.

Ces différentes quantités d'essence montrent que le glucoside ajouté en second lieu a été lui aussi hydrolysé; c'est donc que la myrosine n'a pas eu son action fermentaire paralysée par le bisulfate formé durant l'hydrolyse des premiers 200 mgr. de glucoside. Un essai identique au précédent a été réalisé, mais après hydrolyse de 0 gr. 200 de myronate, nous n'avons pas neutralisé. Après dosage

---

(1) *Apotheker Zeitung*, t. XI, p. 752.

de l'essence formée, soit 27 mgr. 5, le liquide acide a été additionné de 0 gr. 200 de nouveau glucoside et abandonné encore deux heures; le microdosage a fourni un taux d'essence égal à 53 mgr. 2.

Ces différences de résultats montrent donc que la réaction fermentaire n'a pas été empêchée par l'acidité développée par l'hydrolyse de 0 gr. 400 de glucoside.

Augmentons maintenant la concentration en myronate en la portant à 1 % et effectuons une expérience analogue à celles qui précèdent.

Après hydrolyse de deux heures, la proportion d'essence formée a été déterminée, soit 61 mgr.; puis nous avons neutralisé et ajouté 0 gr. 200 de nouveau glucoside et abandonné encore deux heures; un microdosage d'allylsénévol a montré que le taux ne variait pas.

Ces résultats identiques permettent de conclure que le myronate à nouveau ajouté n'a pas été hydrolysé; c'est donc que la myrosine a été annihilée par le bisulfate formé lors de l'hydrolyse à 1 %.

Ces expériences montrent que pour de faibles concentrations en glucoside, 0 gr. 200, par exemple, la myrosine n'est pas annihilée par le bisulfate de potasse formé, mais que *la proportion d'essence dégagée et dosée ne représente pas le taux théorique*. Il nous faut donc examiner si l'hydrolyse du myronate est totale; en d'autres termes, si l'allylsénévol a été complètement produit.

En effet, si le dosage du sénévol ne fournit pas le taux théorique, cela ne veut pas dire que toute l'essence n'ait pas été formée, car une partie, du reste, peut avoir été décomposée.

Nous allons nous rendre compte de ce dernier point en examinant la quantité de bisulfate de potasse obtenue dans la réaction fermentaire.

Dans ce but, l'hydrolyse de 0 gr. 200 de myronate a été effectuée et l'acidité du milieu déterminée, ce qui a fourni 4 cc. 6  $\text{SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$ ; d'autre part, la précipitation par le chlorure de baryum a donné 106 mgr. de sulfate de baryte, correspondant ainsi à 62 mgr.  $\text{SO}^4\text{KH}$ . Ces chiffres se rapprochent singulièrement des quantités rapportées à la réaction théorique totale, soient 4 cc. 8  $\text{SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$ , et 65 mgr.  $\text{SO}^4\text{KH}$ .

L'hydrolyse du myronate était donc complète, d'où nous pouvons conclure qu'à faible concentration en glucoside, l'hydrolyse est totale: l'essence est complètement produite.

Rappelons cependant que pour de plus fortes concentrations en glucoside, 1% par exemple, l'acidité développée par le bisulfate de potasse est capable d'annihiler la réaction fermentaire.

Ces observations ne montrent cependant pas la raison pour laquelle la quantité d'allylsénévol dosé n'atteint pas le taux théorique, tout au moins pour les faibles concentrations en glucoside, la proportion de bisulfate de potasse étant alors peu importante.

Dès lors, on pouvait penser qu'une partie de cet allylsénévol produit était hydrolysé par le sel acide, en donnant du cyanure d'allyle et du soufre.

En effet, nous avons constamment observé que la liqueur diastasique possédait un aspect laiteux après hydrolyse; d'ailleurs, en 1898, CZAPEK (1) a signalé la présence de soufre dans la fermentation des moutardes, mais n'a pas donné d'explication sur sa formation; plus tard,

---

(1) Biochemie der Pflanzen, p. 235.

WILL et KORNER (1) indiquèrent que la production de soufre libre serait en relation étroite avec celle de cyanure d'allyle; KUNZ-KRAUSE (2) a trouvé qu'exposée à l'air et à la lumière, l'essence de moutarde s'altérerait en donnant du cyanure d'allyle et du soufre, ce dernier se dissolvant partiellement pour colorer le produit en jaune.

Il semble donc qu'à côté de l'isosulfocyanate d'allyle, que l'on dose, représentant 58 % du taux théorique, se forme du cyanure d'allyle et du soufre qui échappe au dosage; aussi nous sommes-nous proposé de caractériser puis de doser ce dernier.

Tout d'abord, ayant soumis à l'hydrolyse, durant deux heures, 0 gr. 200 de myronate, le liquide a été évaporé au bain de sable, presque à siccité, ce qui a chassé complètement l'allylsénévol, puis repris par quelques centimètres cubes d'une solution concentrée de soude et porté à l'ébullition; le résidu dissous dans un peu d'eau a été placé dans un tube à essais et additionné d'un excès d'acide sulfurique; un dégagement d'hydrogène sulfuré a été constaté. La présence de soufre libre dans le liquide fermentaire était donc bien démontrée.

Comment doser ce soufre?

Ce corps, très finement divisé, n'a pu être recueilli par filtration; aussi avons-nous réalisé sa floculation soit par le sulfate de baryum précipité au sein même de la suspension laiteuse, soit mieux par un gel d'alumine préparé de la façon suivante:

5 cc. d'une solution de chlorure d'aluminium à 3 % (3),

---

(1) *An. der Chem. u. Pharm.*, t. CXCIX, p. 376.

(2) *Journ. Pharm. et Chim* (7), t. XXIV, p. 269.

(3) Nous n'avons pas utilisé l'hydrate d'alumine provenant du sulfate, car il est constamment souillé de sulfate basique très peu soluble dans l'eau, mais soluble dans les acides.

placés dans un tube à centrifugeuse, sont additionnés d'ammoniaque jusqu'à légère alcalinité; le précipité d'alumine gélatineuse a été lavé par centrifugation jusqu'à élimination complète de l'alcali.

Ce gel a été ajouté au liquide fermentaire résultant de l'hydrolyse du myronate de potasse, puis nous avons fait bouillir quelques instants et filtré; le filtrat obtenu était absolument limpide et le restait même après refroidissement, ce qui montrait que tout le soufre avait été adsorbé par l'alumine.

Le précipité, lavé à l'eau chaude jusqu'à élimination complète de toutes traces de sulfate, a été entraîné par un jet de pissette dans une petite capsule. Après évaporation, le résidu traité par 3 à 4 cc. d'acide chlorhydrique concentré, additionnés d'un peu de chlorate de potasse, a été chauffé au bain-marie, de façon à éliminer l'excès d'acide; le soufre s'est ainsi transformé en acide sulfurique.

Après reprise par l'eau et filtration (1), la liqueur, étendue à 50 cc. environ, a été précipitée à chaud par le chlorure de baryum. Le précipité de sulfate de baryte, recueilli par filtration, lavé, séché et calciné, fournit la quantité de soufre libre contenu dans la suspension laiteuse.

Possédant ainsi un procédé de dosage du soufre, l'expérience suivante a été envisagée:

Nous avons placé 0 gr. 200 de myronate dans un flacon à émeri, 5 cc. de macéré filtré de moutarde blanche à 10 %, puis complété à 100 cc. et abandonné deux heures à 20°. Un microdosage, effectué sur 2 cc. de liquide, a fourni un taux d'essence égal à 27 mgr. 8. Le dosage du soufre, appliqué comme il est indiqué ci-dessus, a donné une quan-

---

(1) Le faible résidu ne présentait pas la réaction du soufre telle que nous l'avons déjà indiquée.

tité de sulfate de baryte de 43 mgr., correspondant à 5 mgr. 9 de soufre ou 18 mgr. 3 d'allylsénévol.

En ajoutant la quantité d'essence véritablement dégagée: 27 mgr. 8 à celle résultant du dosage du soufre, 18 mgr. 3, on obtient un total d'allylsénévol de 46 mgr. 1, chiffre fort voisin du chiffre théorique 47 mgr. 7; mais qui donne cependant une différence de 3 % environ.

La quantité de soufre libre formé dans la réaction fermentaire correspond donc à 3 % près à la proportion d'allylsénévol non retrouvé au dosage.

Cette différence de 3 % provient très probablement d'autres corps pouvant se former à côté de l'isosulfocyanate et du cyanure d'allyle, tel que le sulfure de carbone, dont la formation a été étudiée par BIRKENWALD (1), FORSTER (2), le sulfure d'allyle recherché par WERTHEIM (3), LAURENT (4), l'hydrogène sulfuré entrevu par COLLIN et PERROT (5) et constaté par RENVERSADE (6); mais tous ces corps se forment en proportion très faible (3 %), vis-à-vis de l'allylsénévol et du cyanure d'allyle, et semblent provenir, suivant GADAMER, de l'action de l'eau sur l'allylsénévol.

De ce qui précède, il semble donc bien résulter qu'une partie de l'allylsénévol est décomposé; cela peut être dû à l'influence du bisulfate de potasse.

Aussi allons-nous déterminer, d'une manière définitive, l'influence hydrolysante du bisulfate de potasse sur

---

(1) *Journ. Pharm. et Chim.* (5), t. xxiii, p. 457.

(2) *Die Landwirthschaftliche Versuchstationen.* B. L, Seite 412

(3) *Millon et Reiset*, t. vii, p. 580.

(4) *C. R. Ac. Sc.*, t. xxx, p. 126.

(5) Les résidus industriels de la fabrication des huiles et essences utilisées par l'agriculture comme aliments et comme engrais, 1904, p. 146.

(6) *Th. Doct. Univ. (Pharm.)*, Lyon, 1913, p. 156.

le sénévol. Dans ce but, annihilons la propriété acide de ce sel.

Les agents neutralisants ont dû être choisis, certains possédant une action trop violente; c'est ainsi que Bussy a montré que la potasse décomposait le myronate en allylsénévol, cyanure d'allyle, ammoniacque, soufre et glucose; de même GADAMER a examiné l'action retardatrice de certaines substances, telles que l'hydrocarbonate de magnésie. Pour étudier cette neutralisation, les expériences suivantes ont été effectuées:

1° Nous avons placé 0 gr. 200 de myronate dans un flacon à émeri, 5 cc. de macéré filtré de moutarde blanche à 10 %, complété à 100 cc., puis ajouté II gouttes de phtaléine et de la soude  $\frac{N}{10}$ , de façon à obtenir une teinte rose, qui a été maintenue à peu près constamment par addition progressive de liqueur alcaline.

Des microdosages d'allylsénévol, sur 2 cc. de liquide, ont fourni les résultats qui suivent:

|                     |                        |
|---------------------|------------------------|
| 1 heure après ..... | 24 mgr. 5 allylsénévol |
| 3 — .....           | 37 mgr. 1 —            |
| 5 — .....           | 46 mgr. 2 —            |

2° Un essai identique a été réalisé, mais nous avons ajouté, dès le début de l'hydrolyse, la quantité de soude approximativement nécessaire à la neutralisation du bisulfate de potasse formé, soit 5 cc. NaOH  $\frac{N}{10}$ ; voici les chiffres obtenus:

|                     |                      |
|---------------------|----------------------|
| 1 heure après ..... | 10 mgr. allylsénévol |
| 3 — .....           | 35 mgr. 2 —          |
| 5 — .....           | 46 mgr. 1 —          |

Remarquons l'action retardatrice de l'alcali au début de la réaction diastasique.

3°. Nous avons réalisé de même l'hydrolyse du myronate en présence de carbonate de chaux fraîchement précipité, à la dose de 50 mgr. pour 200 mgr. de glucoside (1). Ce produit était ajouté au commencement de l'action fermentaire et maintenu en suspension par agitations fréquentes. Les résultats sont les suivants :

|                         |           |              |
|-------------------------|-----------|--------------|
| 1 heure après .....     | 23 mgr. 8 | allylsénévol |
| 3        —        ..... | 41 mgr. 2 | —            |
| 5        —        ..... | 46 mgr. 4 | —            |

Dans cette série d'expériences, le soufre libre n'a pu être mis en évidence en fin d'hydrolyse.

Ces essais montrent donc que la neutralisation de l'acidité, due au bisulfate, soit par addition ménagée de soude, soit par addition de carbonate de chaux très divisé, fournit des teneurs en allylsénévol fort voisines du taux théorique : 47 mgr. 7, correspondant à 200 mgr. de myronate.

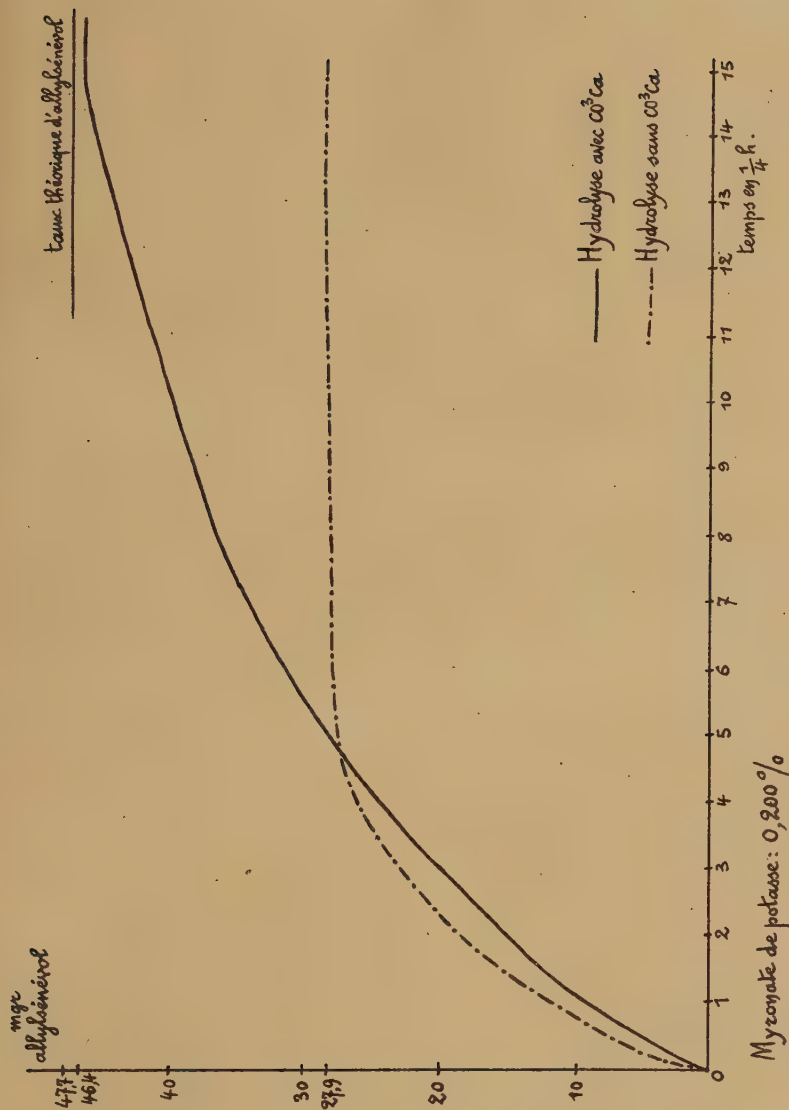
L'hydrolyse de l'isosulfocyanate d'allyle, avec formation de cyanure et soufre est annulée par neutralisation ; c'est donc le bisulfate qui est la cause de ce dédoublement.

Montrons, de plus, à l'aide de graphiques, les différences existant dans l'hydrolyse du myronate de potasse par la myrosine, soit en l'absence, soit en présence de carbonate de chaux.

En vue de cette étude, nous avons effectué deux hydrolyses à partir de 0 gr. 200 de glucoside, avec et sans neutralisant, et dosé l'allylsénévol ; les résultats obtenus nous ont permis d'établir les courbes ci-après :

---

(1) Ce neutralisant était obtenu en traitant 5 cc. d'une solution de 1 gr. de  $\text{CO}_3\text{Ca}$  dans 100 cc.  $\text{HCl}$  dilué, par du carbonate de soude en léger excès et lavage du précipité par centrifugation.



L'examen des premières portions de ces courbes montre que l'hydrolyse du myronate est retardée par le carbonate de chaux; c'est donc qu'une faible acidité, provoquée par le bisulfate de potasse formé dès le début, favorise le dédoublement. Cependant, une plus forte proportion de sel acide empêche le dégagement complet de l'allylsénévol, et cela par formation de cyanure d'allyle et soufre.

#### CONCLUSIONS

*A faible concentration, le bisulfate de potasse a une action hydrolysante vis-à-vis du sénévol; à plus forte concentration, il possède, en outre, une propriété annihilante vis-à-vis de la myrosine.*

La formation de cyanure d'allyle et soufre, par hydrolyse de l'isosulfocyanate d'allyle, peut-être empêchée par un neutralisant, tel que la soude en faible quantité, le carbonate de chaux; dans ces conditions, le taux théorique de sénévol est presque atteint.

---

## CHAPITRE VI

### INFLUENCE DE LA VISCOSITE SUR LA PROTECTION DE LA MYROSINE ET SUR L'HYDROLYSE DU MYRONATE DE POTASSE

On peut poser en principe qu'un ferment résiste d'autant mieux à la chaleur qu'il renferme plus d'impuretés.

Avant de faire connaître nos recherches personnelles, rappelons, à propos de la myrosine, plusieurs faits en faveur de l'influence protectrice due à la viscosité.

Tout d'abord, BRIOUX (1) indique, au sujet des tourteaux de colza, renfermant de la myrosine, que dans la destruction de ce ferment, « la chaleur est d'autant plus efficace qu'elle sera plus humide, elle devient manifeste dans ces conditions dès 95°. » (2).

RENVERSADE (3), reprenant cette étude, a dépassé les limites de température fixées par BRIOUX; c'est ainsi qu'un tourteau de colza, même porté à une température de 130°, durant douze minutes, reprit au bout de dix jours son taux normal de crotonylsénévol: la myrosine n'est donc pas détruite par la chaleur, mais seulement affaiblie.

---

(1) *Annales de la Science agronomique*, 1911, t. I, p. 271.

(2) Selon GUIGNARD, la température de destruction de la myrosine est 81°.

(3) Th. Doct. Univ. (Pharm.), Lyon, 1913, p. 135.

L'auteur pense que la chaleur sèche n'a pas d'action sur le ferment à cause d'une mouture insuffisante ne désagrégant pas, d'une manière complète, les parois cellulodiques, mauvaises conductrices de la chaleur. Cependant, la chaleur humide (tourteau additionné de 10 % d'eau), possédant une action plus efficace, ne pourrait-on pas envisager l'influence, tout au moins partielle, de la viscosité?

Les expériences suivantes, réalisées sur la sucrase par divers auteurs vont nous l'indiquer.

O'SULLIVAN et THOMPSON (1) ont montré les premiers que l'invertine résiste moins bien à la chaleur, en solution pure qu'en solution sucrée.

Plus tard, EL. SCHMIDT a examiné l'action protectrice des diastases grâce à la peptone, l'agar, la gélatine, la glycérine; c'est ainsi que la trypsine en poudre, mélangée à la glycérine, a pu être portée à près de 300° sans être détruite.

Nous avons repris ce dernier essai en mélangeant de la moutarde blanche, très finement pulvérisée, à de la glycérine, le produit ainsi préparé a pu supporter une température de 130°, durant dix minutes, sans que la myrosine soit détruite; son action était cependant atténuée, car l'hydrolyse normale du myronate n'était obtenue qu'après trois jours.

Si l'on remarque que tous ces corps augmentent la viscosité, il semble que ce facteur joue un rôle important dans la protection des diastases, et en particulier de la myrosine.

Examinons maintenant l'influence de la viscosité sur l'hydrolyse du myronate de potasse par la myrosine.

Cette étude est intéressante à envisager, car depuis les

---

(1) Trans. Chem. Soc., t. LVII, 1890, p. 834-931.

travaux d'ACHALME et BRESSON (1), on peut considérer comme définitivement établi l'influence de la viscosité sur les réactions diastasiques. Ces auteurs ont, en effet, montré que l'augmentation de la viscosité, soit par la glycérine, soit par la mannite, ralentissait considérablement l'inversion du saccharose par l'invertine; de même, BOURQUELOT (2) a examiné l'action paralysante de la glycérine sur cette réaction.

Pour augmenter la viscosité des solutions, notre choix s'est porté de préférence sur la glycérine; en effet, les liqueurs obtenues sont homogènes; de plus, son coefficient de viscosité étant un des plus élevés, il est facile de préparer des mélanges très visqueux; enfin, elle n'exerce aucune action chimique sur les phénomènes diastasiques.

Les viscosités relatives ont été déterminées en appliquant la loi de POISEUILLE simplifiée:

$$n = \frac{t}{t'} d.$$

$t$  = temps d'écoulement du liquide;

$t'$  = temps d'écoulement de l'eau distillée;

$d$  = densité du liquide.

Nos déterminations ont été effectuées à 17°, à l'aide du viscosimètre BAUME; de plus, les densités ont été prises par la méthode du flacon.

Deux hydrolyses, à partir de 0 gr. 200 de myronate et 5 cc. d'un macéré à 10 % obtenu comme précédemment, ont été réalisées, l'une en présence de 100 cc. d'eau glycinée à 20 % (3), l'autre avec 100 cc. d'eau distillée. Au bout

---

(1) C. R. Ac. Sc., t. CLII, p. 1328-1420.

(2) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XVII, p. 65-113.

(3) Nous n'avons pas ajouté le carbonate de chaux, ce corps étant difficilement mis en suspension dans les liquides visqueux.

d'une heure, nous avons déterminé la proportion d'allylsénévol formé à l'aide du microdosage déjà utilisé, ce qui a fourni les résultats suivants :

Hydrolyse avec eau distillée . . . . . 27 mgr. 5 allylsénévol  
— eau glycinée à 20 % . . 16 mgr. 3 —

De plus, en prolongeant d'une heure la durée d'hydrolyse, la quantité d'essence trouvée a été de 27 mgr. 7, ce taux étant resté constant, même après 24 heures.

L'influence de la viscosité sur le dédoublement du myronate de potasse par la myrosine est donc nettement établie.

Montrons, en outre, comme l'ont fait ACHALME et BRESSON (1), s'il existe un parallélisme complet entre la durée d'hydrolyse et la viscosité.

Pour cette étude, différentes hydrolyses, avec 0 gr. 500 de myronate, ont été effectuées en milieux plus ou moins visqueux, obtenus avec la glycérine; puis il a été déterminé, après de nombreux microdosages, le temps nécessaire à la formation d'une proportion constante d'allylsénévol.

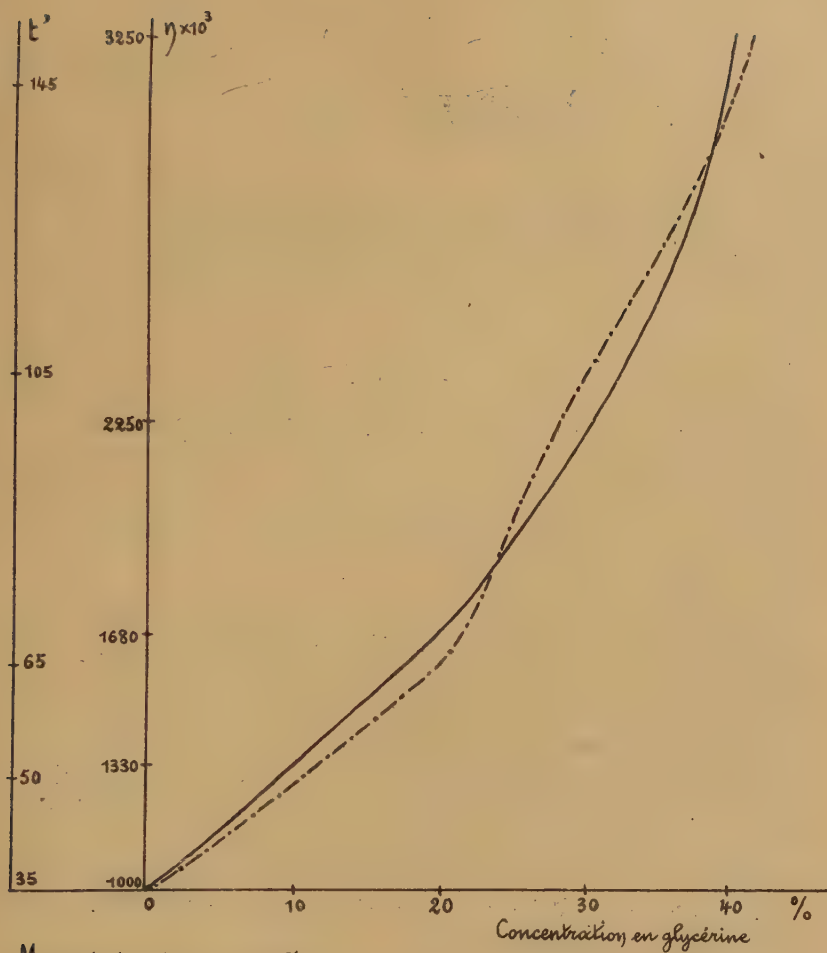
Les résultats obtenus nous ont permis de tracer deux courbes en portant en abscisses la concentration en glycérine, et en ordonnées, l'une le temps nécessaire à la formation de 40 mgr. d'allylsénévol, l'autre la viscosité des liquides par rapport à l'eau. (Voir courbe ci-contre.)

Les deux courbes étant sensiblement identiques, on peut penser que le facteur viscosité joue un rôle prépondérant dans la réaction fermentaire myronate-myrosine.

Cette influence a donc pu entraver le dégagement complet de l'allylsénévol des farines de moutarde, comme il a été constaté dans le premier chapitre; c'est d'ailleurs ce que nous vérifierons dans le chapitre suivant.

---

(1) *Loc. cit.*



Myronate de potasse : 0,500 %

— Viscosité à 17°

- - - Nombre de minutes nécessaires à la formation de 40 <sup>mg</sup> d'allylsénévol.

## CHAPITRE VII

### INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA FORMATION DE L'ALLYLSENEVOL

Nous nous sommes proposé d'examiner si le dégagement d'essence fourni par hydrolyse du myronate par la myrosine était lié à la température, comme il a été montré dans le premier chapitre, pour les macérations de poudre de moutarde.

Aussi les déterminations ne porteront que sur de faibles concentrations en glucoside, rappelant approximativement la teneur des farines de moutarde.

Le Codex indique de procéder au dosage de l'essence à partir d'une macération aqueuse à 5 % ; or, en admettant que les produits commerciaux titrent en moyenne près de 1 % d'allylsénévol, correspondant ainsi *théoriquement* à 4 gr. 150 de glucoside, 5 grammes de farine contiendront environ 0 gr. 200 de myronate.

Les recherches seront donc effectuées à partir de cette quantité. Les essais suivants ont été réalisés :

Trois solutions, contenant chacune 0 gr. 200 de myronate de potasse, 5 cc. de macéré de moutarde blanche à 10 % et 95 cc. d'eau (1) ont été placées durant une heure

---

(1) L'eau a été portée au préalable à la température indiquée.

dans des thermostats à températures différentes: 20°, 50° et 65°.

Les résultats obtenus à l'aide du microdosage d'allylsénévol sont les suivants:

|                           |                        |
|---------------------------|------------------------|
| Hydrolyse à 20° . . . . . | 27 mgr. 5 allylsénévol |
| — à 50° . . . . .         | 27 mgr. 3 —            |
| — à 65° . . . . .         | 27 mgr. 2 —            |

Même en prolongeant la durée d'hydrolyse, la quantité d'essence dégagée n'augmente pas. Ces chiffres sont différents de ceux trouvés pour les farines de moutarde; rap- pelons que des macérations à 5 % de moutarde noire de Bombay, possédant un titre de 0 gr. 75 %, portées à diffé- rentes températures, ont fourni les résultats suivants:

|                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|
| Macération à 20° . . . . | 0 gr. 28 % allylsénévol |
| — à 50° . . . .          | 0 gr. 54 —              |
| — à 70° . . . .          | 0 gr. 70 —              |

D'où proviennent ces différences?

Nous avons songé que l'hydrolyse s'effectuait dans des milieux dissemblables: le premier est en effet homogène, le second visqueux et mucilagineux. Or, nous avons vu précédemment que la viscosité possédait une action très nette sur l'hydrolyse du glucoside; c'est ainsi que les valeurs suivantes ont été trouvées à partir de 0 gr. 200 de myronate.

|                                      |                        |
|--------------------------------------|------------------------|
| Hydrolyse avec eau distillée . . . . | 27 mgr. 5 allylsénévol |
| — eau glycinée à 20 % . . . .        | 16 mgr. 3 —            |

L'hydrolyse était-elle totale dans ce milieu glyciné visqueux?

Pour nous en rendre compte, nous avons déterminé l'acidité de cette solution, soit 2 cc. 1  $\text{SO}^+\text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$ ; ce chiffre,

différent de la quantité théorique 4 cc. 8, correspondant à 0 gr. 200 de glucoside, montre qu'il n'y a pas eu formation de la totalité de l'allylsénévol.

Nous nous sommes proposé de diminuer la viscosité par élévation de température. Dans ce but, l'expérience ci-après a été réalisée.

Ayant hydrolysé 0 gr. 200 de myronate en milieu eau glycérinée à 20 %, et déterminé la proportion d'allylsénévol formé, soit 16 mgr. 1, nous avons porté l'ensemble à 55°, durant une heure; le nouveau taux d'essence a été trouvé égal à 27 mgr. 2.

L'augmentation de température a ainsi provoqué une hydrolyse du glucoside plus complète, et cela par diminution de la viscosité.

Pour montrer, d'une manière définitive, l'influence inverse de la température par rapport à la viscosité, nous avons soumis à l'hydrolyse la même quantité de myronate, 0 gr. 200, en milieux isovisqueux, mais à des températures différentes.

C'est ainsi qu'une solution aqueuse de glycérine à 35 % et à 50°, possède la même viscosité qu'une solution à 20 % à 17°.

A l'aide de ces milieux, nous avons procédé aux essais qui suivent, en opérant sur 0 gr. 200 de myronate:

|                                              |                        |
|----------------------------------------------|------------------------|
| Hydrolyse avec eau glycérinée à 20 % à 17° : | 15 mgr. 7 allylsénévol |
| — — — — — 35 % à 50° :                       | 16 mgr. 1 —            |

D'autres essais, à partir de 0 gr. 200 de myronate, ont donné les résultats suivants:

|                                              |                        |
|----------------------------------------------|------------------------|
| Hydrolyse avec eau glycérinée à 30 % à 17° : | 11 mgr. 8 allylsénévol |
| — — — — — 45 % à 50° :                       | 12 mgr. 3 —            |

Ces résultats fournissent donc bien la preuve que dans ces conditions l'élévation de température a pour seule

action de diminuer la viscosité et de favoriser le dégagement de l'allylsénévol.

Il semble donc, comme nous l'avons déjà indiqué avec ASTRUC (1), que le dégagement incomplet de l'essence à température peu élevée « provient, sans doute, de l'action préservatrice des produits mucilagineux et autres qui accompagnent ferment et glucoside et empêchent une réaction rapide ».

---

(1) ASTRUC (A.) et MOUSSERON (M.). — *Journ. Pharm. et Chim.* (8), t. v, p. 313.

---

## CHAPITRE VIII

### ETUDE

#### DE LA LOI D'ACTION DE LA MYROSINE SUR LE MYRONATE DE POTASSE

Les réactions chimiques sont régies par une loi entrevue par BERTHOLLET dès 1803, puis étudiée par BERTHELOT en 1862, lors de ses recherches sur l'éthérification, et exprimée sous sa forme définitive par GULDBERG et WAAGE, en 1864. C'est la *loi des masses*, suivant laquelle l'action chimique d'un corps est proportionnelle à sa concentration; nous en donnerons l'énoncé suivant:

*A température constante et en milieu homogène, la vitesse d'une réaction, à l'instant t, est proportionnelle au produit des concentrations moléculaires individuelles à cet instant, affectées chacune d'un exposant égal au nombre de molécules correspondantes qui prennent part à la réaction.*

Dans l'étude qui nous occupe, les corps réagissant sont le myronate de potasse et l'eau (hydrolyse provoquée par la myrosine); or, l'eau se trouve en proportion telle que la variation de sa concentration est négligeable, la réaction devient donc *monomoléculaire*; il n'y a donc plus à considérer, suivant la loi des masses, qu'une seule concentration, celle du myronate, que nous désignerons par C; la vitesse de réaction peut alors s'écrire:

$$V = KC$$

K étant la constante de vitesse à la température donnée.

Si nous désignons par  $a$  la concentration moléculaire initiale de myronate (masse active), et par  $x$  le nombre de molécules-grammes par litre, décomposées au temps  $t$ , la concentration en glucoside à cet instant sera :

$$C = a - x$$

D'autre part, on sait que :

$$V = \frac{dx}{dt}$$

$$\text{d'où } \frac{dx}{dt} = K(a-x).$$

et en intégrant : (pour  $t = 0, x = 0$ )

$$K = \frac{1}{t} \log. \frac{a}{a-x}$$

Pour constater si la réaction suit une loi conforme à celle formulée par GULDBERG et WAAGE, il suffit de vérifier si  $K$  reste constant pendant la durée de l'hydrolyse.

Il existe une deuxième méthode plus simple, pour étudier la loi des masses; elle consiste à déterminer la proportion de substance transformée pendant le même temps, dans des systèmes contenant le même corps à différentes concentrations.

En effet, si nous désignons par  $C$  et  $nC$  les concentrations de deux systèmes et par  $x, x'$  les quantités de substance transformée durant le même temps, on peut écrire, en tenant compte des vitesses de réaction  $V$  et  $V'$  :

$$\frac{V}{V'} = \frac{KC}{KnC} = \frac{x}{x'}$$

d'où

$$\frac{x}{x'} = \frac{1}{n}$$

et  $x' = nx$ .

Done, si la loi des masses est vérifiée, le rapport entre les quantités de matière transformée doit être égal à celui des concentrations.

Nous montrerons de plus si la réaction myronate-myrosine est du *type linéaire*, c'est-à-dire si dans des temps égaux l'hydrolyse fournit des quantités égales d'allylsé-névol.

Dans ce cas on peut en effet écrire :

$$x = Kt$$

$x$  représentant la proportion de myronate hydrolysé au bout du temps  $t$ . La réaction sera donc liée à un phénomène linéaire si

$$\frac{x}{t} = K$$

Les principes théoriques exposés succinctement, examinons leur application à la réaction fermentaire myronate-myrosine.

Indiquons, dès à présent, que les considérations précédentes ne peuvent être envisagées que si la réaction n'est pas limitée; aussi les hydrolyses s'effectueront-elles constamment en présence de carbonate de chaux précipité (1). Dans ces conditions, la réaction théorique du Bussy est exacte à 3 % près.

L'expérience suivante, basée sur le premier principe de vérification de la loi a été réalisée.

Nous avons placé, dans un flacon à émeri, de contenance peu supérieure à 100 cc. : 0 gr. 200 de myronate, 5 cc. d'un macéré de moutarde blanche à 10 % (2), 0 gr. 050 de carbonate de chaux fraîchement préparé, complété à 100 cc. et porté l'ensemble à 20°

Des microdosages sur 1 ou 2 cc. de liqueur diastasique ont été effectués à des temps déterminés.

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau ci-après :

---

(1) Voir p. 68.

(2) Le macéré a été préparé comme il a été indiqué p. 55.

| $a = 200 \text{ mgr} \quad \log. a = 2,3010 \quad k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ |                       |                                      |               |       |                |                        |                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|---------------|-------|----------------|------------------------|-----------------------|
| t<br>(en minutes)                                                                     | Allysénovol<br>en mgr | x<br>myronate<br>hydrolysé<br>en mgr | $\frac{x}{t}$ | a — x | log<br>(a — x) | log<br>$\frac{a}{a-x}$ | k                     |
| 15                                                                                    | 8                     | 33,2                                 | 2,21          | 166,8 | 2,2222         | 0,0788                 | $5,26 \times 10^{-3}$ |
| 30                                                                                    | 14,5                  | 60,2                                 | 2,00          | 139,8 | 2,1455         | 0,1555                 | 5,19 —                |
| 45                                                                                    | 19,4                  | 80,5                                 | 1,79          | 119,5 | 2,0773         | 0,2237                 | 5,00 —                |
| 60                                                                                    | 23,8                  | 98,8                                 | 1,65          | 101,2 | 2,0052         | 0,2958                 | 4,93 —                |
| 90                                                                                    | 31,2                  | 129,5                                | 1,44          | 70,5  | 1,8482         | 0,4528                 | 5,03 —                |
| 120                                                                                   | 35,7                  | 148,1                                | 1,23          | 51,9  | 1,752          | 0,5858                 | 4,90 —                |
| 150                                                                                   | 39,3                  | 163,1                                | 1,09          | 36,9  | 1,5670         | 0,7340                 | 4,90 —                |
| 180                                                                                   | 42,5                  | 176,3                                | 0,98          | 23,7  | 1,3747         | 0,9263                 | 5,14 —                |
| 210                                                                                   | 43,7                  | 181,3                                | 0,86          | 18,7  | 1,2718         | 1,0292                 | 4,90 —                |
| 270                                                                                   | 46,2                  | 191,7                                | 0,71          | 8,3   | 0,9191         | 1,3829                 | 5,12 —                |

En moyenne :  $K_m = 5,03 \times 10^{-3}$

On voit d'abord que les nombres représentant  $\frac{x}{t}$  ne sont pas identiques; c'est donc que *le phénomène n'est pas linéaire*. De plus, les valeurs trouvées pour K sont presque semblables; *la réaction d'hydrolyse est donc bien du type monomoléculaire irréversible*. Pour nous en assurer, calculons  $a - x$  pour les divers temps, à partir de la moyenne arithmétique  $K_m = 0,00503$ ; on a, en effet:

$$K = \frac{1}{t} \log. \frac{a}{a-x}$$

et en particulier pour  $K_m$

$$K_m t = \log. \frac{a}{a-x} = \log. a - \log. (a-x)$$

d'où:

$$\log (a-x) = \log a - K_m t$$

Calculons ainsi  $a - x$  et comparons les valeurs avec celles obtenues expérimentalement.

| $a = 200 \text{ mgr}$ $\log. a = 2,3010 = \log. \frac{a-x}{a - K_m t}$ $K_m = 0,00503$ |         |                 |                    |                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------------|--------------------|--------------------|
| $t$<br>(en minutes)                                                                    | $K_m t$ | $\log. (a - x)$ | $a - x$<br>calculé | $a - x$<br>observé |
| 15                                                                                     | 0,0754  | 2,2256          | 168,1              | 166,8              |
| 30                                                                                     | 0,1518  | 2,1492          | 141,0              | 139,8              |
| 45                                                                                     | 0,2262  | 2,0748          | 118,8              | 119,5              |
| 60                                                                                     | 0,3036  | 1,9974          | 99,4               | 101,2              |
| 90                                                                                     | 0,4524  | 1,8486          | 70,5               | 70,5               |
| 120                                                                                    | 0,6072  | 1,6938          | 49,4               | 51,9               |
| 150                                                                                    | 0,7590  | 1,5420          | 34,9               | 36,9               |
| 180                                                                                    | 0,9048  | 1,3962          | 24,9               | 23,7               |
| 210                                                                                    | 1,0626  | 1,2384          | 17,4               | 18,7               |
| 270                                                                                    | 1,3572  | 0,9438          | 8,8                | 8,3                |

L'écart entre la valeur observée et la valeur calculée est très faible et ne dépasse pas l'ordre des erreurs d'expérience; nos mesures sont donc exactes.

Réalisons maintenant un essai identique, mais avec une concentration plus forte en myronate, soit 5 %, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-après:

| $a = 5000 \text{ mgr}$ |                        |                                   | $\log. a = 3,6989$ |         | $K = \frac{1}{t} \log. \frac{a}{a-x}$ |                       |                       |
|------------------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------|---------|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| $t$<br>(en minutes)    | Allylsénévol<br>en mgr | x myronate<br>hydrolysé<br>en mgr | $\frac{x}{t}$      | $a - x$ | $\log.$<br>( $a - x$ )                | $\log. \frac{a}{a-x}$ | K                     |
| 15                     | 84                     | 349                               | 23,3               | 4676    | 3,6685                                | 0,0304                | $2,03 \times 10^{-3}$ |
| 30                     | 145                    | 602                               | 20,0               | 4398    | 3,6433                                | 0,0556                | 1,85 —                |
| 60                     | 225                    | 934                               | 15,6               | 4066    | 3,6091                                | 0,0898                | 1,49 —                |
| 90                     | 268                    | 1112                              | 12,3               | 3888    | 3,5189                                | 0,1092                | 1,21 —                |
| 120                    | 305                    | 1266                              | 10,5               | 3734    | 3,5722                                | 0,1267                | 1,05 —                |
| 240                    | 380                    | 1577                              | 6,5                | 3423    | 3,5344                                | 0,1645                | 0,68 —                |
| 360                    | 430                    | 1784                              | 4,9                | 3216    | 3,5073                                | 0,1916                | 0,53 —                |

Nous avons vérifié que l'hydrolyse du myronate était totale, la proportion d'allylsénévol formé étant fort voisine du taux théorique: 1190 mgr.

Comme dans l'expérience précédente, pour laquelle la concentration était très faible,  $\frac{x}{t}$  n'est pas constant, ce qui montre que *l'hydrolyse n'est pas un phénomène linéaire.*

De plus, les valeurs trouvées pour K ne sont pas semblables, elles diminuent avec le temps; *la réaction n'est donc pas monomoléculaire.*

En conclusion, si la loi logarithmique est vérifiée pour de faibles concentrations en myronate, il n'en est pas de même lorsque les proportions de ce dernier augmentent, la vitesse étant plus faible que celle indiquée par la loi; c'est d'ailleurs ce qui a été observé par Mlle PHILOCHE (1).

(1) Recherches physico-chimiques sur l'amylase et la maltase. Thèse Paris, 1908.

pour l'amylase et la maltase, par VICTOR HENRI (1), Mlle CHAUDUN (2) pour la sucrase.

Envisageons maintenant l'examen de la loi d'action de la myrosine sur le myronate, en appliquant la deuxième méthode basée sur les différences de quantités de glucoside hydrolysé avec les concentrations.

En vue de cette étude, diverses expériences ont été réalisées, les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

| CONCENTRATION EN MYRONATE  | QUANTITÉ D'ALLYLSÉNÉVOL<br>FORMÉ EN 20 MINUTES |
|----------------------------|------------------------------------------------|
| 50 mgr. pour 10 cc. eau... | 2 mgr. 4                                       |
| 100 — — — — —              | 4 mgr. 9                                       |
| 150 — — — — —              | 7 mgr. 0                                       |
| 250 — — — — —              | 8 mgr. 2                                       |
| 500 — — — — —              | 10 mgr. 7                                      |
| 700 — — — — —              | 11 mgr. 2                                      |
| 1000 — — — — —             | 8 mgr. 8                                       |

Ainsi que le montrent ces chiffres, pour de très faibles concentrations, la quantité d'allylsénévol formé est proportionnelle à la concentration; puis la proportion de glucoside augmentant, la proportionnalité diminue, et même au-delà de 7%, l'hydrolyse suit une loi inverse à celle indiquée par GULDBERG et WAAGE.

Ces résultats sont du reste comparables à ceux obtenus avec l'invertine par BARTH (3), puis par E. DUCLAUX (4).

(1) Lois générales de l'action des diastases. Thèse Paris, 1908.

(2) Recherches physico-chimiques sur l'inversion diastasique du saccharose. Thèse Paris, 1920.

(3) *Ber. d. Deuts. Chem. Gesells.*, 1898, t. XI, p. 474.

(4) Traité de Microbiologie, t. II, Chapitre VIII.

### CONCLUSIONS

Comme l'a indiqué ACHALME (1), à propos de l'étude de la réaction diastasique: saccharose-invertine, nous pouvons formuler les propositions suivantes:

1° Pour les solutions très diluées, l'hydrolyse du myronate de potasse par la myrosine paraît suivre la loi des masses.

2° Pour les plus fortes concentrations, elle n'est plus conforme à cette loi et paraît même suivre une loi inverse, la vitesse d'hydrolyse diminuant à mesure que les proportions de glucoside augmentent.

Ces résultats paraissent être liés à l'influence du facteur viscosité, comme l'a montré ACHALME (2), en introduisant ce dernier dans les calculs de la vitesse de réaction.

---

(1) Electronique et Biologie par ACHALME, p. 512.

(2) C. R. Ac. Sc., t. CLII, p. 1621.

## CONCLUSIONS GENERALES

La PREMIÈRE PARTIE de ce travail est à la fois galénique et analytique; elle porte sur l'étude des graines de *Brassica nigra*, que nous avons envisagée à différents points de vue; nous les mettrons en évidence sous forme de conclusions.

La plupart des farines commerciales ont des teneurs en essence au moins égales au titre officinal 0,70 %, teneur souvent dépassée dans la plupart des échantillons examinés.

L'action révulsive de la moutarde paraît quelquefois insuffisante, cela peut être dû à la température trop peu élevée d'obtention de ses formes pharmaceutiques. Nous avons en effet montré, en appliquant divers procédés de dosage de l'allylsénévol — distillation sous pression réduite, extraction par l'éther, entraînement par courant d'air — que le dégagement de l'essence est fonction de la température, ce dernier augmentant peu à peu jusque vers 70°, température au-dessus de laquelle l'action fermentaire est annihilée.

L'hydrolyse du glucoside myronate de potasse par le ferment myrosine fournit, à côté de l'allylsénévol, du glucose et du bisulfate de potasse; nous avons donc songé à déterminer comparativement les quantités de sénévol et de glucose; or, le titrage de ce dernier nous a toujours donné des chiffres bien supérieurs à ceux fournis par la

réaction d'hydrolyse théorique; un acte fermentaire doit s'ajouter à celui provoquant la formation d'essence de moutarde. C'est pourquoi nous avons recherché divers ferments solubles, rencontrés à côté de la myrosine, dans les graines de *Brassica nigra* et parallèlement dans celles de *Sinapis alba*; un certain nombre de diastases: invertine, amylase, maltase, émulsine, caséase, glycérphosphatase, anaéroxydase ont pu être décelées; cependant, émulsine et anaéroxydase sont presque inexistantes chez *Sinapis alba*. De plus, le saccharose a été mis en évidence dans la moutarde noire.

Depuis les beaux travaux de G. BERTRAND et de ses collaborateurs, il est admis que le rôle joué par les substances minérales dans l'action des diastases est capital; c'est pourquoi l'étude comparative des cendres des deux sortes de moutardes a été envisagée. La répartition des éléments  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ , Ca, Mg, K, Na est approximativement la même pour tous les échantillons examinés; il a été de même déterminé les teneurs en éléments catalytiques: Mn, Fe, Cu, Ni, Co, Zn, Bo. Indiquons que *Sinapis alba*, ne présentant qu'une faible réaction oxydasique, renferme une proportion de manganèse et de fer bien inférieure à celle trouvée chez *Brassica nigra*.

Les chapitres suivants constituent une DEUXIÈME PARTIE traitant de l'hydrolyse du myronate de potasse par la myrosine. En vue de l'examen de la réaction de Bussy, nous avons établi, après de longs tâtonnements, un microdosage d'allylsénévol, constamment appliqué dans le cours de ces recherches. Ce microdosage repose sur les données suivantes: entraînement de l'allylsénévol par les vapeurs d'eau et d'alcool (l'alcool fort bouillant arrêtant instantanément toute action fermentaire); formation de thiosinamine au contact du sénévol et de l'ammoniaque, puis

de sulfure d'argent en présence de solution argentique; et microdosage de l'excès d'argent. L'appareil utilisé est semblable à celui indiqué par PARNAS et WAGNER pour la microkjeldahlisation; les résultats obtenus sont comparables à ceux fournis par la macrométhode du Codex, et ne sont entachés que d'une erreur, tout au plus égale à 3 %, pour les plus faibles proportions d'essence à doser.

L'étude de l'hydrolyse fermentaire du myronate comporte plusieurs chapitres; nous rapporterons ici les conclusions déjà formulées.

Pour une faible concentration en myronate, l'hydrolyse est totale; cependant, la quantité théorique d'allylsénévol n'est pas obtenue (le dosage de l'essence a fourni en effet 58 % du taux théorique); le bisulfate de potasse prenant naissance possède une double action: hydrolyse du sénévol avec formation de cyanure d'allyle et soufre, et pouvoir destructif de la myrosine à plus forte concentration. Cette action peut être annulée par un neutralisant tel que la soude en faible proportion, le carbonate de chaux fraîchement préparé; dans ces conditions, la réaction de Bussy est exacte à 3 % près.

D'autre part, l'augmentation de viscosité par la glycérine protège la myrosine contre l'action de la chaleur; c'est ainsi qu'un mélange de glycérine et de moutarde blanche a pu être porté à 130° sans que sa propriété fermentaire soit annihilée. De plus, l'influence de la viscosité sur la réaction diastasique myronate-myrosine a été nettement établie en comparant les durées d'hydrolyse avec la viscosité des milieux, cette durée augmentant parallèlement avec la viscosité.

L'hydrolyse du myronate en solution homogène ne semble pas être fonction de la température; une augmentation de cette dernière ne favorisant pas le dégagement de

l'essence, alors qu'il en est autrement pour les macérations aqueuses à 5 % de moutarde noire: la viscosité paraît être la cause de cette différence. Pour vérifier ce point, nous avons montré qu'en élevant la température de ces milieux visqueux, ce qui diminue la viscosité, le taux d'allylsénévol formé était approximativement identiques, si on a soin de les rendre isovisqueuses.

Enfin, l'étude de la loi d'action de la myrosine sur le myronate a été envisagée, montrant ainsi l'analogie existant avec l'action d'autres ferments: invertine, amylase, maltase... au point de vue de la loi des masses; il a été prouvé que la vitesse d'hydrolyse diminue à mesure que les concentrations en glucoside augmentent; en d'autres termes, la loi logarithmique, vérifiée pour de faibles proportions de myronate, ne l'est plus pour de fortes concentrations.

---

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ACHALME (A.). — Electronique et Biologie. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLII, p. 1621.

ACHALME (A.) et BRESSON. — Les lois d'action de la sucrase en tenant compte de la viscosité. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLII, p. 1328-1420.

AGULHON (H.). — Recherches sur la présence et le rôle du Bore chez les végétaux. Thèse Paris, 1910.

AMBARD (L.). — Modifications à la méthode de Bertrand pour rendre cette méthode applicable au dosage de petites quantités de sucre. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. II, 1920, p. 203.

ANDRÉ (G.). — Chimie agricole. Chimie végétale. 1924.

ASTRUC (A.). — Traité de Pharmacie galénique, 1921.

ASTRUC (A.) et MOUSSERON (M.). — Nouvelle méthode de dessiccation du résidu dans le dosage de certains alcaloïdes. *Congrès de l'A. F. A. S. Bordeaux*, 1923.

— Sur les divers ferments solubles contenus dans la moutarde noire. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXIV, p. 126.

— Sur la formation et le dosage de l'isosulfocyanate d'allyle dans la farine de moutarde. *Journ. Pharm. et Chim.* (8), t. v. p. 313.

BARTH. — *Ber. d. deuts. Chem. Gesells.* 1878, t. XI, p. 474.

BARTHE (L.) et DUFILHO (E.). — Dosage du sodium. Applications aux eaux minérales et aux liquides biologiques. *Bull. Pharm. Bordeaux*, 1926, p. 162.

BERTRAND (G.). — Recherche et dosage de petites quantités de manganèse, en particulier dans les substances organiques. *Bull. Sc. Pharm.*, t. XVIII, 1911, p. 193.

BERTRAND (G.) et AGULHON (H.). — Recherche de traces de Bore.  
*Ann. Chim. Analyt.*, t. xv, p. 45.

BERTRAND (G.) et JAVILLIER (M.). — Sur une méthode extrêmement sensible de précipitation et de dosage du Zinc.  
*Bull. Soc. Chim.* (4), t. I, p. 63, et t. III, p. 114.

BERTRAND (G.) et MEDIGRÉANU (F.). — Recherches sur le manganèse normal du sang. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XI, p. 665.

BERTRAND (G.) et MOKRAGNATZ (M.). — Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de cuivre, de zinc, de nickel et de cobalt. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXXIII, p. 1539.

BERTRAND (G.) et PERIETZEANU (J.). — Sur la présence du sodium chez les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXIV, p. 645.

BERTRAND (G.) et THOMAS (P.). — Guide pour les manipulations de chimie biologique, 1913.

BERTRAND (G.) et VLADESCO (R.). — Sur les causes de variation de la teneur en zinc des animaux vertébrés. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXII, p. 768, et t. CLXXXIII, p. 54.

BIRKENWALD (P.). — Sur l'origine du sulfure de carbone contenu dans l'essence de moutarde. *Journ. Pharm. et Chim.* (5), t. XXIII, p. 457.

BLANCHETIÈRE (A.). — Sur une méthode de dosage du sodium.  
*Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXIII, p. 807.

BORDAS (P.) et TOUPLAIN (F.). — Le Bore considéré comme élément spécifique de certaines eaux minérales. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXXVI, p. 149.

BOURQUELOT (E.). — Influence de la glycérine sur l'activité de l'invertine. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XVII, p. 65-113.

BOURQUELOT (E.) et BRIDEL (M.). — Sur la recherche du raffinose dans les végétaux. Sa présence dans deux graines de Légumineuses. *Journ. Pharm. et Chim.* (6), t. XXX, p. 162.

BOUTRON (M.) et FRÉMY (E.). — Recherche sur les semences de moutarde noire et blanche. *C. R. Ac. Sc.*, t. IX, p. 817.

- BOUTRON (M.) et ROBIQUET. — Sur la semence de moutarde. *Journ. de Pharm.* (2), t. xvii, p. 279.
- BRIOUX (M.). — *Ann. Sc. agronomique*, 1911, t. i, p. 270.
- BUSSY (A.). — Sur la formation de l'huile essentielle de moutarde. *Journ. de Pharm.* (2), t. xvi, p. 44.
- *Journ. de Pharm.* (2), t. xxvi, p. 39.
- *C. R. Ac. Sc.*, t. ix, p. 810.
- CANALS (E.). — Du rôle physiologique du magnésium chez les végétaux. Thèse Paris, 1920.
- CHAUDUN (Mlle A.). — Recherches physico-chimiques sur l'inversion diastasique du saccharose. Thèse Paris, 1920.
- COLLIN et PERROT. — Les résidus industriels de la fabrication des huiles et essences utilisées dans l'agriculture comme aliments et comme engrais, 1904.
- DELEZENNE, MOUTON et POZERSKI. — Sur la digestion brusque par la papaine. *C. R. Soc. Biol.*, t. lx, p. 68-309.
- DIÉTERICH. — *Helfenberg Analen*, 1896, p. 222.
- DUCLAUX (E.). — *Traité de Microbiologie*, 1898.
- FAURÉ (J.). — Sur les semences de moutarde noire. *Journ. de Pharm.* (2), t. xvii, p. 299.
- FLEURY (P.) et SUTU (Z.). — Remarque sur l'hydrolyse comparée des acides glycérophosphorique  $\alpha$  et  $\beta$  par les agents chimiques et les ferments. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xi, p. 1716.
- FONTÈS (G.) et THIVOLLE (L.). — Microdosage manganométrique du glucose sur 1 cc. de sang ou de liquide céphalo-rachidien. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. iii, 1921, p. 226.
- FONZES-DIACON (H.) et FABRE (J.). — Sur la recherche du bore dans les eaux minérales. *C. R. Ac. Sc.*, t. clviii, p. 1541.
- FORSTER (O.). — Die Landwirthschaftliche Versuchstationen. *B. L.*, Seite, 412.
- GADAMER. — Ueber die glucoside des. Schwazen und weissen Senp. *Arch. der Pharm.*, t. ccxxxv, p. 44-58.
- *Apotheker Zeitung*, t. xi, p. 752.
- GALLAGHER. — *Biochem. Journ.*, t. xviii, 1924, p. 39.
- GEIGER et HESSE. — *Anal. den. Pharm.* Vol. xiv. p. 41.

- GRÉLOT (P.). — Sur la présence normale d'amidon dans la moutarde préparée pure. *Bull. Sc. Pharm.*, t. xv, 1908, p. 210.
- GRIMBERT (L.). — Recherche de petites quantités de maltose en présence de glucose. *Journ. Pharm. et Chim.* (6), t. xvii, p. 225.
- GUERBET (M.). — Nouvelle méthode de dosage des sels ferriques en présence des sels ferreux et de matières organiques. *Bull. Sc. Pharm.*, 1911, t. xviii, p. 686.
- GUÉRITHAULT (B.). — Recherche et dosage de très petites quantités de cuivre chez les végétaux. *Bull. Sc. Pharm.*, t. xviii, 1911, p. 633.
- GUIBOURT. — Réclamation au sujet de la non préexistence de l'huile volatile dans la graine de moutarde. *Journ. de Pharm.* (2), t. xvii, p. 360.
- Traité des Drogues simples.
- GUIGNARD (L.). — Sur la localisation du principe actif des Crucifères. *C. R. Ac. Sc.*, t. cxi, p. 249-920.
- HENRI (Victor). — Lois générales de l'action des diastases. Thèse Paris, 1903.
- HÉRISSEY (H.). — Recherches sur l'émulsine. Th. Doct. Univ. (Pharm.). Paris, 1899.
- HÉRISSEY (H.) et SIBASSIÉ (R.). — Recherche biochimique sur la nature et la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine contenues dans quelques graines de Légumineuses. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. xxx, p. 340.
- IMBERT (H.) et JUILLET (A.). — Sur les farines de moutarde noire. *Bull. Sc. Pharm.*, t. xx, 1913, p. 385.
- IMBERT (H. et R.) et PILGRAIN (P.). — La réaction de Schœnbein appliquée à la microrecherche de l'ion Cu. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxv, p. 60.
- JADIN (F.) et ASTRUC (A.). — L'importance du manganèse dans les eaux minérales. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. vii, p. 155.

- JAVILLIER (M.). — Sur la présence et le rôle du zinc chez les plantes. *Bull. Sc. Pharm.*, t. xv, 1908, p. 559.
- Recherche sur la présence et le rôle du zinc chez les plantes. Thèse Paris, 1908.
- KUNZ-KRAUSE (H.). — Sur les causes et la composition du précipité insoluble se formant dans l'essence de moutarde. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. xxiv, p. 269.
- LAURENT. — *C. R. Ac. Sc.*, t. xxx, p. 126.
- MAQUENNE (L.) et DEMOUSSY (E.). — Sur la distribution et la migration du cuivre dans les tissus des plantes vertes. *C. R. Ac. Sc.*, t. clxx, p. 87.
- MARGUERIT (R.). — Sur le dosage et la teneur en allylsénévol des farines de moutarde. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. vii, p. 547.
- MORVILLEZ (M.) et MEESEMCKER (R.). — Nouveau procédé de dosage de l'allylsénévol et étude comparée des divers procédés utilisés. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. xxviii, p. 442, et t. xxx, p. 236.
- NEMEC (M.). — *Biochem Zeit.*, 1923, t. cxxxvii, p. 570.
- NICLOUX (M.). — La microanalyse organique quantitative (conférence). *Bull. Soc. Chim.* (4), t. xxxv, p. 1040.
- O'SULLIVAN et THOMPSON. — *Trans. Chem. Soc.*, t. lvii, 1890, p. 834-931.
- PHILOCHE (Mlle Ch.). — Recherches physico-chimiques sur l'amy-lase et la maltase. Thèse Paris, 1908.
- PILGRAIN (P.). — Microdosage de l'ion Cu. Th. Doct. Univ. (Pharm.), Montpellier, 1925.
- RENVERSADE (E.). — Moutardes, colzas et navettes. Etudes micro-graphique et chimique. Th. Doct. Univ. (Pharm.), Lyon, 1913.
- SAUVAITRE (P.). — Sur la farine de moutarde pharmaceutique. *Bull. Pharm. Bordeaux*, 1927, p. 94.
- SCHULZE et FRANCKFURT. — *D. Ch. G.*, t. xxvii, p. 62.
- SCHULZE et VON PLATA. — *D. Ch. G.*, t. xxiii, p. 1692 et t. xxiv, p. 2705.
- STRENG. — *Zeit anal. Chem.*, 1884, t. xxiii, p. 115.

TANRET (G.). — Présence de stachyose dans les graines. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XIII, p. 176.

THIBIERGE. — *Journ. de Pharm.* (2). t. v, p. 439.

WERTHEIM. — *Millon et Reiset*, t. VII, p. 580.

WILL et KORNER. — *Ann. der. Chem. u. Pharm.*, t. CXIX, p. 376.

En ma qualité de Censeur de tour,  
j'ai lu la thèse ayant pour titre :

*Recherches chimiques physico-chimiques et pharmaceutiques sur Brassica nigra et son essence.*

Par M. Max MOUSSERON

Pour l'obtention du diplôme de  
*Pharmacien Supérieur de 1<sup>re</sup> Classe*

Je pense que la Faculté peut en  
permettre l'impression.

Montpellier, le 9 Juin 1927.

Le Professeur,

A. ASTRUC.

Vu :

Montpellier, le 10 Juin 1927.

Le Doyen,

G. MASSOL.

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 10 Juin 1927.

Le Recteur,

Jules COULET.

TABLE ANALYTIQUE

|                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| AVANT-PROPOS. ....                                                                                                                       | 10 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                       | 11 |
| CHAPITRE I. — <i>Influence de la température sur la formation<br/>de l'allylsénévol dans la farine de moutarde<br/>noire</i> .....       | 16 |
| CHAPITRE II. — <i>Sur les divers ferments solubles contenus<br/>dans les graines de Brassica nigra et Sinapis<br/>alba</i> .....         | 27 |
| CHAPITRE III. — <i>Etude comparative des cendres de Brassica<br/>nigra et Sinapis alba</i> .....                                         | 41 |
| CHAPITRE IV. — <i>Recherches spéciales sur l'allylsénévol. —<br/>Méthodes utilisées dans ces recherches</i> .....                        | 54 |
| CHAPITRE V. — <i>Influence du bisulfate de potasse sur la réaction<br/>diastasique: myronate-myrosine</i> .....                          | 60 |
| CHAPITRE VI. — <i>Influence de la viscosité sur la protection<br/>de la myrosine et sur l'hydrolyse du myronate<br/>de potasse</i> ..... | 71 |

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE VII. — <i>Influence de la température sur la formation de l'allylsénévol, la concentration en glucoside étant faible</i> ..... | 76 |
| CHAPITRE VIII. — <i>Etude de la loi d'action de la myrosine sur le myronate de potasse</i> .....                                        | 80 |
| CONCLUSIONS GÉNÉRALES .....                                                                                                             | 88 |
| BIBLIOGRAPHIE .....                                                                                                                     | 92 |

---





